

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL UBI JALAR UNGU (*Ipomea batatas L.*)**

**TOPIKAL TERHADAP JUMLAH PEMBULUH DARAH PADA PENYEMBUHAN**

**LUKA TIKUS *Rattus norvegicus* STRAIN WISTAR MODEL DIABETES**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh :

**Luh Putu Ratih Prayascita Hutami  
155070107111021**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2018**

## DAFTAR ISI

Halaman

JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.3.1 Tujuan Umum .....	6
1.3.2 Tujuan Khusus .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	7
1.4.1 Manfaat Akademis .....	7
1.4.2 Manfaat Praktis .....	7
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2.1 Diabetes Mellitus .....	8
2.1.1 Epidemiologi Diabetes Mellitus .....	8
2.1.2 Klasifikasi Diabetes Mellitus .....	9
2.1.3 Etiopatofisiologi Diabetes Mellitus .....	11
2.1.4 Kriteria Diagnosis Diabetes Mellitus .....	14
2.1.5 Komplikasi Diabetes Mellitus .....	15
2.1.5.1 Ulkus Diabetik .....	16
2.1.5.2 Penatalaksanaan Ulkus Diabetik .....	21
2.2 Streptozotocin .....	23
2.3 Proses Penyembuhan Luka .....	24
2.3.1 Peran Angiogenesis dalam Fase Penyembuhan Luka .....	31
2.4 Penyembuhan Luka pada Ulkus Diabetik .....	34

2.5 Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)..... 36

2.5.1 Kandungan Gizi dan Fungsional Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*) 38

2.5.2 Peran Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*) terhadap Penyembuhan Luka40

**BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN ..... 42**

3.1 Kerangka Konsep Penelitian..... 42

3.2 Uraian Kerangka Konsep Penelitian ..... 43

3.3 Hipotesis Penelitian ..... 45

**BAB 4 METODE PENELITIAN ..... 46**

4.1 Rancangan Penelitian ..... 46

4.2 Sampel Penelitian..... 46

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian..... 48

4.4 Variabel Penelitian..... 48

4.3.1 Variabel Bebas..... 48

4.3.2 Variabel Terikat..... 49

4.5 Definisi Operasional..... 49

4.6 Alat dan Bahan Penelitian..... 50

4.7 Prosedur Penelitian/Pengumpulan Data..... 56

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)..56

4.7.2 Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*) .57

4.7.3 Preparasi Hewan Coba..... 58

4.7.4 Induksi Diabetes ..... 58

4.7.5 Pengukuran Gula Darah Puasa ..... 59

4.7.6 Pembuatan Luka..... 60

4.7.7 Perawatan Luka..... 61

4.8 Prosedur Pemeriksaan..... 63

4.8.1 Pengambilan Jaringan..... 63

4.8.2 Pembuatan Preparat Histopatologi..... 64

4.8.3 Pewarnaan Hemakosilin dan Eosin (HE)..... 64

4.8.4 Prosedur Pengamatan Pembuluh Darah..... 66

4.8.5 Pengumpulan Data..... 66

4.9 Analisa Statistik..... 67

4.10 Alur Penelitian ..... 69

**BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA..... 71**

5.1 Hasil Perbedaan Jumlah Pembuluh Darah Antar Kelompok..... 71

5.2 Analisis Data..... 76

5.2.1 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas ..... 77

5.2.2 Hasil Uji One-Way ANOVA..... 77

5.2.3 Hasil Uji Perbandingan Berganda (Uji *Post Hoc*)..... 78

5.2.4 Uji Korelasi ..... 79

**BAB 6 PEMBAHASAN..... 80**

6.1 Pengaruh Diabetes Melitus terhadap Jumlah Pembuluh Darah  
*Rattus Novergicus Strain Wistar* ..... 80

6.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)  
terhadap Jumlah Pembuluh Darah Tikus *Rattus norvegicus Strain Wistar*  
Model Diabetes..... 82

6.3 Pengaruh Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)  
Konsentrasi 10% dan 15% terhadap Jumlah Pembuluh Darah Tikus *Rattus*  
*norvegicus Strain Wistar Model Diabetes* ..... 85

6.4 Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)  
Terhadap Peningkatan Jumlah Pembuluh Darah Tikus *Rattus norvegicus*  
*Strain Wistar Model Diabetes* ..... 86

6.5 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran ..... 87

6.6 Keterbatasan Penelitian..... 88

**BAB 7 PENUTUP..... 89**

7.1 Kesimpulan..... 89

7.2 Saran..... 90

**DAFTAR PUSTAKA..... 91**

**LAMPIRAN..... 101**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**TUGAS AKHIR**

**EFEK EKSTRAK ETANOL UBI JALAR UNGU (*Ipomoea batatas L.*) TOPIKAL  
TERHADAP KETEBALAN RE-EPITELISASI PENYEMBUHAN LUKA TIKUS  
*Rattus norvegicus* STRAIN WISTAR MODEL DIABETES**

Oleh:

**Elviara Martha Tinova Suprpto**

**NIM. 155070107111048**

Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 29 November 2018

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

**dr. Aurick Yudha Nagara, Sp.EM**

**NIP. 2011018403161001**

Pembimbing I/Penguji II,

**dr. Ratih Paramita Suprpto, M.Biomed**

**NIP. 2013098908042001**

Pembimbing II/Penguji III,

**dr. Eviana Norahmawati, Sp. PA (K)**

**NIP. 196910281997022001**

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Pendidikan Kedokteran**

**dr. Triwahjū Astuti, M.Kes., Sp.P(K)**

**NIP. 196310221996012001**

## DAFTAR PUSTAKA

American Diabetes Association.2010. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*;35(suppl 1): S64-71.

Armstrong DG, Boulton AJM, Bus SA. Diabetic foot ulcers and their recurrence. *N Engl J Med* 2017;376:2367–2375

Arya AK, Garg S, Kumar S, et al. 2013. Estimation of lymphocyteapoptosis in patients with chronic non-healing diabetic footulcer. *Int J Med Sci Pub Health*.;2(4):766-768.

Baum CL, Arpey CJ. 2005. Normal cutaneous wound healing: clinical correlation with cellular and molecular events. *Dermatol Surg*; 31: 674 –686.

Beckman JA, Goldfine AB, Gordon MB, Creager MA. 2001. Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilatation impaired by acute hyperglycemia in humans Circulation. *Int J Med Sci Pub Health* .103:1618-23.

Blakytyn R, Jude E. 2006. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes. *Diabet Med*. 23(6):594–608.

Boulton AJ. 2013. The pathway to foot ulceration in diabetes. *Med Clin North Am*. 97(5):775–90.

Bovell-Benjamin AC: Sweet Potato: A review of its past, present, and future role in human nutrition. *Adv Food Nutr Res* 2007;52: 1–59.

Brem H, Tomic-Canic M. 2007. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *J Clin Investig*.117(5):1219–22.

Broughton G 2nd, Janis JE, Attinger CE. 2006. Wound healing: an overview. *Plast Reconstr Surg*. 117(7 suppl): 1e-S – 32e-S.

Bus SA, Ulbrecht JS, Cavanagh PR (2004) Pressure relief and load redistribution by custom-made insoles in diabetic patients with neuropathy and foot deformity. *Clin Biomech* 19(6): 629–38

Calhoun JH, Overgaard KA, Stevens CM, Dowling JP, Mader JT. Diabetic foot ulcers and infections: current concepts. *Adv Skin Wound Care* 2002;15:31-42.

Cavanagh PR, Bus SA. Off-loading the diabetic foot for ulcer prevention and healing. *J Am Podiatr Med Assoc* 2010;100: 360-8.

Cavanagh PR, Lipsky BA, Bradbury AW, Botek G. . 2005. Treatment for diabetic foot ulcers. *Lancet*.366: 1725-33

Chhabra N., Aseri M. L., Dixit R, Gaur S.,(2012). Pharmacotherapy for multidrug resistant tuberculosis. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* 2012; 10:403-415

Cooke DW, Plotnick L .2008. "Type 1 diabetes mellitus in pediatrics". *Pediatr Rev.* 29 .374–84

Crozier A. The bioavailability of sweet potato anthocyanins in rats. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007; 51: 714-725.

Cunningham JJ. 1998. The glucose/insulin system and vitamin C: Implications in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Col of Nutr.* 17(2):105-8

Dahlan, Sopiudin. (2011). *Statistika Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi Ke-5. Salemba Medika. Jakarta.

Desta T, Li J, Chino T, Graves DT. 2010. Altered fibroblast proliferation and apoptosis in diabetic gingival wounds. *J Dent Res.* 89(6):609–14.

Dinh T, Tecilazich F, Kafanas A, Doupis J, Gnardellis C, Leal E, et al. 2012. Mechanisms involved in the development and healing of diabetic foot ulceration. *Diabet Med.* 61(11):2937–47.

Dong, A, Shen, J, Zeng MB, Campochiaro, PA . 2011. Vascular cell-adhesion molecule-1 plays a central role in the proangiogenic effects of oxidative stress. *PNAS* .108(35):14614-14619

Drela E, Stankowska K, Kulwas A, Rosc D. 2012. Endothelial progenitor cells in diabetic foot syndrome. *Adv Clin Exp Med.* 21(2):249–54.

Ebaid, H., Ahmed, O. M., Mahmoud, A. M., & Ahmed, R. R. (2013). Limiting prolonged inflammation during proliferation and remodeling phases of wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats supplemented with camel undenatured whey protein. *BMC Immunology*, 14(1), 31.

Evans J L, Goldfine ID, Maddux BA, and Grodsky M P . 2003. Type 2 diabetes, insulin secretion and  $\beta$  cell mass. *Current Molecular Medicine*. 89: 2601-07

Fadini GP, Sartore S, Agostini C, Avogaro A. 2007. Significance of endothelial progenitor cells in subjects with diabetes. *Diabetes Care*. 30(5):1305–13.

Falanga V.1998. Wound healing and chronic wounds. *J Cutan Med Surg* 3: 1S – 5S.

Falanga, V. (2005). Wound healing and its impairment in the diabetic foot. *The Lancet*, 366(9498), 1736–1743.

Febrinda, A.E., M. Astawan, T. Wresdiyati, dan N.D Yuliana. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa-Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal teknologi dan Industri Pangan*. Bogor. 24(2) : 161 – 167.

Frisca, Caroline, T., Sandra, F. (2009). Angiogenesis : Patofisiologi dan Aplikasi Klinis. Stem Cell and Cancer Institute. JKM. Vol.8 No.2:174-187.

Frykberg, R. G., Zgonis, T., Armstrong, D. G., Driver, V. R., Giurini, J. M., Kravitz, S. R., Vanore, J. V. (2006). Diabetic Foot Disorders: A Clinical Practice Guideline (2006 Revision). *The Journal of Foot and Ankle Surgery*, 45(5), S1–S66.

Giusti, M.M. and R.E. Wrolstad, 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanin by UV-Visible Spectroscopy. *John Wiley and Sons*. Inc.

Gohil KJ, Patel JA, Gajjar AK. Pharmacological Review on *Centella asiatica*: A Potential Herbal Cure-all. *Indian J Pharm Sci*. 2010;72(5):546-56.

Goldman R. 2004. Growth factors and chronic wound healing: past, present and future. *Adv Skin Wound Care*. 17: 24 – 35.



Goldstein, D. E., Little, R. R., Lorenz, R. A., Malone, J. I., Nathan, D., Peterson, C. M., & Sacks, D. B. (2004). Tests of Glycemia in Diabetes. *Diabetes Care*, 27(7), 1761–1773. doi:10.2337/diacare.27.7.1761

Gonzalez, A. C., Costa, T. F., Andrade, Z. A., & Medrado, A. R. (2016). Wound healing - A literature review. *Anais brasileiros de dermatologia*, 91(5), 614-620.

Graham, M. L., Janecek, J. L., Kittredge, J. A., Hering, B. J., & Schuurman, H. J. (2011). The streptozotocin-induced diabetic nude mouse model: differences between animals from different sources. *Comparative medicine*, 61(4), 356-60.

Gurth G. C., 2007, "Wound Healing: Normal and Abnormal," In Thorne C. H., Beasley R.W., Aston S. J., Bartlett S. P., Spear S. L., Eds. *Grabb & Smith's Plastic Surgery*, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, 15-22.

Hamzah, M. Mazwadeh A.,. 2006. Antinflammatory Activity of *Achillea* and *Ruscus* Topical Gel on Carrageenan-Induced Paw Edema in Rats. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*. 63(4): 277-280.

Harding, K., Cutting, K. 1994. Criteria for identifying wound infection. *J Wound Care*. 90: 262-270.

Harris M, Zimmet P. Classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. In Alberti K, Zimmet P, Defronzo R, editors. *International Textbook of Diabetes Mellitus*. Second Edition. Chichester: *John Wiley and Sons Ltd*; 1997. p9-23.

Hart J: Inflammation. 2002. 1: its role in the healing of acute wounds. *J Wound Care*. 11: 205 – 209.

Hermes, D., Dudek, D. N., Maria, M. D., Horta, L. P., Lima, E. N., de Fátima, Â., Modolo, L. V. (2013). In vivo wound healing and antiulcer properties of white sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Journal of Advanced Research*, 4(4), 411–415. doi:10.1016/j.jare.2012.06.001

Honnegowda TM, Kumar P, Udupa EG, Kumar S, Kumar U, Rao P. Role of angiogenesis and angiogenic factors in acute and chronic wound healing. *Plast Aesthet Res* 2015;2:243-9.

Huaman Z: *Systematic botany and morphology of the sweet potato plant*. Lima, Peru: International Potato Center (CIP), 1992, pp. 5–11.

Hunt KJ, Schuller KL. The increasing prevalence of diabetes in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2007; 34 (2): 173-99, vii.

Jawi IM, Arijane IGK, Subawa AAN, Wirasuta IMAG (2016) The Pharmacological Mechanismes of Anthocyanin in Aqueous Extract of Purple Sweet Potato as Antihyperglycemic Herbal Remedy. *Global Journal of Medical Research*.16(2)

Jawi IM, Arijane IGK, Yasa IWP, Subawa AAN .2017. Comparison of The Effect of Ethanol Extract with Aqueous Extract of Purple Sweet Potato Tuber in Expression of SOD-2, SOD-3, and eNOS on Human Vascular Endothelial Cells Exposed by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in-Vitro. *Journal of Global Pharma Technology* . 06(9):58-63

Jeffcoate WJ, Harding KG. Diabetic foot ulcers. *Lancet* 2003; 361: 1545–51.

Jones, K. R., Fennie, K., & Lenihan, A. (2007). Evidence-Based Management of Chronic Wounds. *Advances in Skin & Wound Care*, 20(11), 591–600.

Jude Rodrigues and Nivedita Mitta .2011. Diabetic Foot and Gangrene, Gangrene - Current Concepts and Management Options, Dr. Alexander Vitin (Ed.). *InTech*.

Kano M, Takayanagi T, Harada K, Makino K, Ishikawa F. (2005) Antioxidative Activity of Anthocyanins from Purple Sweet Potato, Ipomea batatas cultivar Ayamurasaki, Bioscience, *Biotechnology and Biochemistry* 69,979-988

Kant, V., Gopal, A., Kumar, D., Pathak, N. N., Ram, M., Jangir, B. L., Kumar, D. (2015). Curcumin-induced angiogenesis hastens wound healing in diabetic rats. *Journal of Surgical Research*, 193(2), 978–988.

King, JF. A. (2012). The Use of Animal Models in Diabetes Research. *British Journal of Pharmacology*. 166:877-894.

Lachman J, Hamouz K, Sulc M, Orsak M, Pivec V, Hejtmankova A, Dvorak P, and Cepel J .2009. Cultivar differences of total anthocyanins and anthocyanidins in red and purple-fleshed potatoes and their relation to antioxidant activity. *Food Chemistry* 144: 836-43

Lobmann R, Schultz G, Lehnert H. 2005. Proteases and the diabetic foot syndrome: mechanisms and therapeutic implications. *Diabetes Care*.28(2):461-71.

Martin A, Komada MR, Sane DC. Abnormal angiogenesis in diabetes mellitus. *Med Res Rev* 2003;23:117-45.

Melo de, A, V., Anjos dos, S,C,D.(2011). Efficacy of Oral Curcuminoid Fraction From *Curcuma xanthorrhiza* and Curcuminoid Cider in High-Cholesterol Fed Rats. *Journal in the field of Pharmacognosy and Natural Products*. 8: 153-9.

Nizamutdinova I T, Jin Y C, Chung J I, Shin S C, Lee S J, Seo H G, Lee J H, Chang K C, and Kim H J .2009. The anti-diabetic effect of anthocyanins in streptozotocin-induced diabetic rats through glucose transporter 4 regulation and prevention of insulin resistance and pancreatic apoptosis. *Mol Nutr Food Res*. 53(11): 1419-29.

Notoadmodjo S., 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Edisi Kedua, Ghalia Indonesia, Jakarta, hal. 17-19.

Obasieki-Ebor EE, Afonya TC, Onyekweli AO.1983.Preliminary report on the antimicrobial activity of honey distillate. *J Pharmacol*; 35: 748-9.

Ochoa O, Torres FM, Shireman PK. 2007. Chemokines and diabetic wound healing. *Vascular*. 15(6):350-5.

PamungkasDDA .2012. Potensi Ekstrak Umbi dan Daun Ubi Jalar Ungu sebagai Inhibitor  $\alpha$ -Glukosidase. Bogor : *Departemen kimia fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam institut pertanian bogor*.

Panda V., Sonkamble M., & Patil S.(2011). Wound healing activity of *Ipomoea batatas* tubers (sweet potato) . *Functional Foods in Health and Disease* 2011; 10:403-415

Paraskevas KI, Baker DM, Pompella A, Mikhailidis DP. 2008. Does diabetes mellitus play a role in restenosis and patency rates following lower extremity peripheral arterial revascularization? A critical overview. *Ann Vasc Surg* 22:481–491,

Parisi, M. C. R., Moura Neto, A., Menezes, F. H., Gomes, M. B., Teixeira, R. M., de Oliveira, J. E. P., Saad, M. J. A. (2016). Baseline characteristics and risk factors for ulcer, amputation and severe neuropathy in diabetic foot at risk: the BRAZUPA study. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 8(1).

Perkumpulan Endokrinologi Indonesia. *Petunjuk Praktis Pengelolaan Diabetes Mellitus Tipe 2*. PB PERKENI Jakarta. Editor: S. Soegondo, P. Soewondo, I. Subekti. PB. PERKENI. Jakarta 2002.

Pradhan Nabzdyk L, Kuchibhotla S, Guthrie P, Chun M, Auster ME, Nabzdyk C, et al. 2013. Expression of neuropeptides and cytokines in a rabbit model of diabetic neuroischemic wound healing. *J Vasc Surg*. 58(3):766–75 e12.

Prasetyo, F. B., Wientarsih, I., Priosoeryanto, P., B. 2010. Aktivitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon dalam Proses Penyembuhan Luka pada tikus Balb-c. *Jurnal Veteriner*. ISSN 1454-9856.

Rahati, R. 2015. Aktivitas Antihiperlikemia Sediaan Emulsi Nanokurkuminoid Temulawak pada Tikus Sprague Dawley yang Di Induksi Streptozotocin. Tugas Akhir. Tidak Diterbitkan. Institut Pertanian Bogor.

Ram, M., Singh, V., Kumawat, S., Kant V., Tandan, K.S., Kumar, D. 2016. Billirubin Modulated Cytokines, Growth Factors and Angiogenesis to Improve Cutaneous Wound Healing Process in Diabetic Rats. *International Immunopharmacology*. Volume 30, No 137-149.

Rathee P, Chaudhary H, Rathee S, Rathee D, Kumar V, Kohli K. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. *Inflamm Allergy Drug Targets*. 2009 Jul;8(3):229-35. Review. *PubMed PMID*: 19601883.

Ratz-Lyko A, Arct J, Pytkowska K. Moisturizing and Antiinflammatory Properties of Cosmetic Formulations Containing Centella asiatica Extract. *Indian J Pharm Sci*. 2016;78(1):27-33.

Robson MC, Steed DL, Franz MG2001. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Curr Probl Surg*. 38: 72 – 140.

Rodrigues, B. T., Vangaveti, V. N., & Malabu, U. H. (2016). Prevalence and Risk Factors for Diabetic Lower Limb Amputation: A Clinic-Based Case Control Study. *Journal of Diabetes Research*, 2016, 1–7. doi:10.1155/2016/5941957

Rodriguez-Saona LE, Giusti M, Wrolstad R (1998) Anthocyanin Pigment Composition of Red-Fleshed Potatoes. *Journal of Food Science* 63, 458-465.

Roglic G, Unwin N. Mortality attributable to diabetes: estimates for the year 2010. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 87 (1): 15-19.

S.-M. Hwang, C.-Y. Chen, S.-S. Chen, and J.-C. Chen. 2000. Chitinous materials inhibit nitric oxide production by activated RAW 264.7 macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol.271, no.1, pp.229–233.

Sankaran, M., Vadivel, A. (2011) Antioxidant and Antidiabetic Effect of *Hibiscus rosasiensis* Flower Extract on Streptozotocin Induced Rats A Dose Response Study. *Not Sci Biology*. 3(4):13-21

Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 87: 4–14.

Sheehan P, Jones P, Caselli A, Giurini JM, Veves A. 2003. Percent change in wound area of diabetic foot ulcers over a 4-week period is a robust predictor of complete healing in a 12-week prospective trial. *Diabetes Care*. 26(6):1879–82.

Singh N, Armstrong DG, Lipsky BA. Preventing foot ulcers in patients with diabetes. *JAMA* 293:217-228, 2005.

Skyler, J. S., Bakris, G. L., Bonifacio, E., Darsow, T., Eckel, R. H., Groop, L., Ratner, R. E. (2016). Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes*, 66(2), 241–255.

Suprpta (2003) dalam *Ariks* (2006); Direktorat Gizi Depkes RI (1981) dalam Direktorat Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (2002)

Szkudelski T, Kandulski K, Okulicz M: Streptozotocin in vivo does not only exert deleterious effects on pancreatic B cells. *Physiol Res* 47: 343-346, 2001.

Tanaka Y, Tran P, O T, Harmon J, and Robertson R P. 2002. A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic  $\beta$  cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity. *PNAS* 99(19):12363-8.

Tecilazich F, Dinh TL, Veves A. 2013. Emerging drugs for the treatment of diabetic ulcers. *Expert Opin Emerg Drugs*. 18(2):207–17.

Tonnesen MG, Feng X, Clark RA. Angiogenesis in wound healing. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2000;5:40-6.

Tonnesen MG, Feng X, Clark RA. Angiogenesis in wound healing. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2000;5:40-6.

Unwin N, Gan D, Whiting D. The IDF Diabetes Atlas: providing evidence, raising awareness and promoting action. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 87: 2–3.

Urakami, T., Kubota, S., Nitadori, Y., Harada, K., Owada, M., & Kitagawa, T. (2005). Annual Incidence and Clinical Characteristics of Type 2 Diabetes in Children as Detected by Urine Glucose Screening in the Tokyo Metropolitan Area. *Diabetes Care*, 28(8), 1876–1881.

Vanwijck R. 2001. Surgical biology of wound healing. *Bull Mem Acad R Med Belg* 115: 175 – 184

Vikramadithyan RK, Hu Y, Noh HL, Liang CP, Hallam K, Tall AR, Ramasamy R, Goldberg IJ. 2005. Human aldose reductase expression accelerates diabetic atherosclerosis in transgenic mice. *J Clin Invest*. 2434–43.

Wagner FW Jr. *The diabetic foot*. Orthopedics 1987; 10:163–72

Warren Clayton, Jr., MD, Tom A. Elasy, MD, MPH. 2009. A Review of the Pathophysiology, Classification, and Treatment of Foot Ulcers in Diabetic Patients. *Clinical Diabetes*. 27(2): 52-58.

Whiting D, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2011.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes : estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diab Care* 27:1047–1053, 2004

Winarsih, W., Wientarsih, I., Sutardij, N. L. (2012). Aktivitas Salep Ekstrak Rimpang Kunyit Dalam Proses Penyembuhan Luka Pada Mencit Model Diabetes. *Jurnal Veteriner*. ISSN; 1411-8327

Wolf G. 2005. New insights into the pathophysiology of diabetic nephropathy: from haemodynamics to molecular pathology. *J Clin Invest*. 114: 836-43

Woolfe JA: Sweet Potato—Past and Present. In: Sweet Potato: An Untapped Food Resource, Cambridge University Press, Cambridge, 1992, pp. 15–40.

Yuhermita, 2014. Pengaruh pemberian Gel Ekstrak Methanol Daun Jarak Tintir (*Jathropha Multifida L.*) terhadap Kepadatan Serabut Kolagen dan Jumlah Angiogenesis dalam Proses Penyembuhan Luka. *Jurnal Veteriner*. ISSN; 1411-8327



## ABSTRAK

Hutami, LP. 2018. **Efek Pemberian Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*) Topikal terhadap Jumlah Pembuluh Darah Pada Penyembuhan Luka Tikus *Rattus norvegicus* Strain Wistar Model Diabetes.** Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Ratih Paramita S, M.Biomed, (2) dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA(K).

Diabetes mellitus adalah penyakit kronis yang dapat menyebabkan berbagai komplikasi salah satunya yaitu ulkus diabetik. Salah satu patogenesis ulkus diabetik adalah peningkatan stress oksidatif. Overproduksi ROS pada diabetes menyebabkan perubahan patologis pada penyembuhan luka seperti penurunan faktor pertumbuhan yang akan berdampak pada berkurangnya jumlah pembuluh darah. Ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mengurangi ROS, sehingga dapat membantu penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek pemberian ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) topikal terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan dua puluh ekor *Rattus norvegicus* wistar jantan berusia 10-12 minggu, dilukai pada punggung dengan ukuran 1,5 X 1,5 cm. Tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok (1) Kontrol negatif (2) Kontrol positif (tikus diabetes dengan gel plasebo) (3) Tikus diabetes dengan ekstrak ubi jalar ungu topikal 10% (4) Tikus diabetes dengan ekstrak ubi jalar ungu topikal 15%. Tikus dirawat selama 14 hari. Jumlah pembuluh darah dihitung dengan pemeriksaan histopatologi. Hasil uji *one way* ANOVA menunjukkan ada perbedaan yang signifikan pada peningkatan jumlah pembuluh darah antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan nilai ( $p < 0,000$ ). Hasil *post hoc test* menunjukkan perbedaan yang paling signifikan ( $p < 0,05$ ) yaitu pada konsentrasi 15%. Dapat disimpulkan pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) dapat meningkatkan jumlah pembuluh darah pada luka diabetes dan, terdapat korelasi bermakna antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) dan peningkatan jumlah pembuluh darah.

Kata Kunci : ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*), penyembuhan luka, diabetes mellitus, pembuluh darah

**The Effect of Topical Extract Purple Sweet Potato (*Ipomea batatas L.*) In Number of Blood Vessel In Wound Healing Process On *Rattus norvegicus* Wistar Induced Diabetes**

Luh Putu Ratih P.H ✉ Ratih Paramita\*, Eviana Norahmawati\*\*



## ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic disease that can cause various complications, one of which is diabetic ulcer. One of the DU pathogenesis through increasing oxidative stress. Overproduction of ROS in diabetic condition causes pathological changes in wound healing such as inhibit the growth factors which will decrease the number of blood vessels. Purple sweet potato (*Ipomea batatas L.*) has antioxidant activities that can reduce ROS, so it can help wound healing process. The purpose of this study was to identify the effect of topical *Ipomea batatas L.* into the increasing number of blood vessels. This study was experimental using twenty male *Rattus norvegicus* wistar aged 10-12 weeks, were excised in the back with 1,5 X 1,5 cm width. Rats were divided into 4 groups (1) negative control (2) positive control (diabetic rats with placebo gel) (3) diabetic rats given *Ipomea batatas L.* extract 10% (4) diabetic rats given *Ipomea batatas L.* extract 15% treated for 14 days. The blood vessels was counted using histopathology examination. The result of One Way ANOVA test showed that there was significant difference in increasing of blood vessel formation between control group and treatment group. As indicated by the value ( $p < 0,000$ ). The result of post hoc test showed that group treated with 15% extract has the most significant difference of increase blood vessels's number ( $p < 0,05$ ). It can be concluded that topical extract of *Ipomea batatas L.* can increase blood vessel number in diabetic wound and, there was a significant correlation between the increase in the concentration of purple sweet potato (*Ipomea batatas L.*) extract and the increase in the number of blood vessels.

**Keywords :** Purple sweet potato (*Ipomea batatas L.*), wound healing, diabetes, blood vessel

✉ E-mail: ratihprayascitta116@gmail.com

\* Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

\*\* Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran UB-RSSA Malang

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus merupakan suatu kelompok kelainan metabolik dengan karakteristik hiperglikemia kronis dengan gangguan metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak yang terjadi akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. (American Diabetes Association, 2010) Saat ini diperkirakan terdapat 285 juta penduduk dunia yang menderita diabetes, jumlah ini meningkat dibandingkan tahun 2008 ketika penderita diabetes mencapai 246 juta penduduk. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 380 juta penduduk pada tahun 2025, atau setara dengan 7,1% dari total penduduk dewasa pada tahun tersebut, dan akan terus meningkat menjadi 439 juta penduduk pada tahun 2030 (Whiting *et al*, 2011).

Diabetes dapat dikontrol dengan gaya hidup sehat dan terapi farmakologis. Namun apabila tidak dikontrol dengan baik, hiperglikemia berkepanjangan dapat menyebabkan komplikasi pada sistem pembuluh darah, kemudian menjalar pada sistem yang lain seperti sistem saraf. Gangguan sistem pembuluh darah dan saraf merupakan penyebab utama ulkus kaki diabetes. Diperkirakan 15% dari penderita diabetes melitus mengalami komplikasi ulkus kaki diabetes. *Diabetic Foot Ulcer* (DFU) merupakan luka kompleks dan kronis yang dalam waktu panjang berdampak pada kesehatan, kematian dan kualitas

hidup pasien. Dimana penderita diabetes dan ulkus kaki diabetes memiliki risiko 15 kali lipat lebih tinggi mengalami amputasi kaki (Rodrigues, 2011)

Gangguan penyembuhan luka pada kondisi diabetes terjadi akibat peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang disertai dengan ketidakseimbangan antioksidan seluler akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Stress oksidatif merupakan faktor patogenesis dari diabetes mellitus (Ebaid, 2013). Apabila luka tidak ditangani dengan tepat, maka dapat berkembang menjadi luka yang kronis (Rodrigues, 2011)

Proses penyembuhan luka diabetes meliputi fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi. Fase inflamasi terjadi segera setelah timbulnya luka meliputi terjadinya vasokonstriksi dan pelepasan mediator peradangan. Pada fase proliferasi ditandai dengan terbentuknya jaringan granulasi yang tersusun dari fibroblas dan angiogenesis. Pada fase maturasi ditandai dengan diserapnya edema dan sel-sel radang, pematangan sel-sel muda dan penyerapan kolagen yang berlebihan. Pembentukan pembuluh darah baru atau angiogenesis merupakan salah satu elemen kunci pada proses penyembuhan luka, yang dimulai pada saat proliferasi (Honnegowda *et al*, 2015).

Pada proses penyembuhan luka diabetes, angiogenesis mempunyai peranan yang sangat penting. Angiogenesis merupakan proses alami yang diperlukan untuk menjaga aliran darah ke jaringan setelah terjadi luka. Kerusakan pada jalur angiogenesis akan merusak granulasi dan menunda proses penyembuhan luka, sehingga akan menjadi luka kronis (Tonnesen *et al*, 2000). Luka kronis yang berkelanjutan dapat menyebabkan nekrosis jaringan yang terus meluas dan dapat menyebabkan komplikasi yang lebih berat.

Standar pengobatan luka diabetes saat ini meliputi debridement, kontrol infeksi dan perawatan luka serta, *offloading*. Debridement bertujuan untuk menghilangkan jaringan nekrotik, kemudian dilanjutkan dengan pemberian antibiotik untuk mengontrol infeksi bakteri dan perawatan luka dengan *dressing* yang bertujuan untuk menciptakan lingkungan yang lembab dan membantu progresi penyembuhan luka. Kemudian, *offloading* ditujukan untuk mendistribusikan tekanan secara merata (Bus *et al*, 2004). Namun, masih besar risiko kekambuhan pada ulkus diabetes walaupun hasil perawatan penyembuhan luka bagus, angka kekambuhan diperkirakan sekitar 66%, dan risiko amputasi meningkat sampai 12% (Jones *et al*, 2007).

Saat ini perkembangan penelitian farmasi kesehatan di seluruh dunia sedang memusatkan perhatiannya pada bahan alami yang dianggap memiliki potensi untuk membantu proses penyembuhan luka karena dianggap memiliki efek samping yang minimal, lebih murah dan mudah didapat dibandingkan obat-obatan yang mengandung bahan kimia. Selain itu bahan alami juga telah lama digunakan sebagai sumber pengobatan yang efektif. Banyak tanaman yang telah terbukti dapat membantu proses penyembuhan luka dalam berbagai penelitian, seperti *Jatropha curcas*, *Aloe barbadensis*, *Centella asiatica* (Gohil *et al*, 2010) Berbagai tanaman ini memiliki efek antifungal, antimikroba, antioksidan, aktivitas antiinflamasi (Ratz *et. al.*, 2016). Zat aktif yang sering ditemukan pada tumbuhan yaitu senyawa fenol (flavonoid, asam fenolat, polifenol/tanin).

Flavonoid dipercaya sebagai salah satu komponen penting dalam proses penyembuhan luka dan merupakan antioksidan yang poten (Rathee *et.al.*, 2009).

Berbagai keunggulan yang dimiliki oleh bahan alami menyebabkan banyak penelitian dilakukan untuk menemukan pengobatan terbaru dalam

penyembuhan ulkus diabetes. Salah satunya mengenai potensi ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L* ) untuk menyembuhkan ulkus diabetes. Berbagai penelitian telah membuktikan bahwa kandungan total fenol terutama antosianin yang terdapat dalam ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L* ) memiliki khasiat antioksidan dan antiinflamasi (Kano *et al*, 2005). Antosianin dalam ubi jalar ungu bekerja dengan mengurangi lipid peroksidase, meningkatkan kecepatan epitelisasi dan berfungsi sebagai antimikroba. Penurunan lipid peroksidase akan mencegah terjadinya nekrosis, memperbaiki vaskularisasi, dan meningkatkan viabilitas serabut kolagen (Khan *et.al*, 2012). Kandungan total fenol pada ubi jalar ungu 4,9-6,7 kali lebih tinggi dibanding ubi jalar kuning dan putih, serta 2,5-3,2 kali lebih tinggi daripada blueberry (Rodriguez-Saona *et al*. 1998)

Penelitian Hermes *et al*. (2013) menjelaskan tikus yang dilukai, kemudian diberi ekstrak umbi ubi jalar putih (*Ipomea batatas*) secara topikal pada luka kemudian, diinjeksi *vincristine sulfate* untuk mengamati metafase pada mitosis sel pada daerah yang dilukai, menghasilkan histologi jaringan luka dengan metafase sel lebih tinggi dibandingkan dengan luka tanpa terapi. Senyawa dalam ubi jalar putih (*Ipomea batatas*) yang diduga memiliki kemampuan untuk menyembuhkan luka adalah carotenoid dan polifenol yang ada pada umbi ubi jalar putih. Carotenoid dan polifenol memiliki aktivitas antioksidan, dan mekanisme kerjanya menghambat pembentukan radikal bebas yang diproduksi berlebihan selama kondisi inflamasi pada luka.

Kandungan flavonoid mampu mengatur fungsi sel dengan cara merangsang produksi TGF- $\beta$  (*Transforming Growth Factor- $\beta$* ) yang dapat meningkatkan migrasi dan proliferasi fibroblas di daerah jejas luka dan menginduksi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) yang berperan dalam

pembentukan pembuluh darah baru. Semakin banyak pembuluh darah baru maka proses penyembuhan luka dapat berlangsung lebih cepat (Tonnesen *et al*, 2000). Senyawa polifenol/tanin memiliki kemampuan sebagai antimikroba, dapat meningkatkan epitelisasi, serta meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler juga fibroblas. Flavonoid dan tanin juga bertanggung jawab dalam proses wound contraction (Kano *et al*, 2005).

Meskipun telah terungkap berbagai bukti ilmiah mengenai manfaat ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) dan kandungan zat aktif yang ada di dalamnya sebagai anti diabetes dan dapat membantu penyembuhan luka, belum ada penelitian mengenai manfaat ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) terhadap proses angiogenesis pada penyembuhan luka pada tikus model diabetes yang diberikan secara topikal. Sehingga, perlu dilakukan penelitian mengenai penyembuhan luka dengan pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara topikal pada tikus *Rattus norvegicus strain wistar* model diabetes dan di amati proses angiogenesis pada luka.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara topikal dapat meningkatkan jumlah pembuluh darah pada penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus strain wistar* model diabetes ?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L.) secara topikal terhadap jumlah pembuluh darah pada penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus strain* wistar model diabetes.

#### 1.3.1 Tujuan Khusus

1. Membuktikan adanya perbedaan jumlah pembuluh darah pada penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus strain* wistar normal dan tikus *Rattus norvegicus strain* wistar model diabetes.
2. Membuktikan adanya perbedaan jumlah pembuluh darah pada penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus strain* wistar model diabetes tanpa pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L) dan dengan pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L) secara topikal.
3. Membuktikan adanya perbedaan jumlah pembuluh darah pada penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus strain* wistar model diabetes dengan pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L) secara topikal konsentrasi 10 % dan 15 %.
4. Membuktikan adanya hubungan dosis ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L) dengan jumlah pembuluh darah pada penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus strain* wistar model diabetes.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademis :

Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk menambah wawasan ilmu pengetahuan dan dasar untuk pengembangan penelitian selanjutnya khususnya tentang pengobatan luka diabetik menggunakan ekstrak etanol ubi jalar ungu.

(*Ipomea batatas L.*)

### 1.4.2 Manfaat Praktis

1. Dapat dijadikan sebagai dasar pertimbangan masyarakat untuk alternatif pengobatan luka diabetik menggunakan ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*).
2. Dapat dijadikan sebagai penambah nilai guna dan nilai ekonomis ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*).



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Diabetes Melitus

##### 2.1.1 Epidemiologi Diabetes Melitus

Saat ini diperkirakan terdapat 285 juta penduduk dunia yang menderita diabetes mellitus (DM), jumlah ini meningkat dibandingkan tahun 2008 ketika penderita diabetes mencapai 246 juta penduduk. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 380 juta penduduk pada tahun 2025, atau setara dengan 7,1% dari total penduduk dewasa pada tahun tersebut, dan akan meningkat lagi menjadi 439 juta penduduk pada tahun 2030 (Unwin N *et al.*, 2010).

Prevalensi diabetes melitus sendiri mulai mengalami kenaikan pada awal dekade 1990-an, seiring dengan meningkatnya prevalensi obesitas (Roglic G, 2010). Di berbagai belahan dunia, angka kejadian diabetes melitus terus meningkat, baik di negara berkembang seperti India, maupun di negara maju seperti Amerika Serikat. Di Amerika Serikat (AS), Prevalensi diabetes melitus diperkirakan akan meningkat menjadi 12% pada tahun 2050, dari sebelumnya 5,6% pada tahun 2005, dan prevalensi pada penduduk usia 65 tahun ke atas diprediksi akan meningkat menjadi 20,1% pada tahun 2050 dari sebelumnya 12,9% pada tahun 2010 (Unwin N *et al.*, 2010).

Diabetes melitus yang merupakan penyebab kematian nomor 6 di AS (Shaw JE *et al.*, 2010), diderita oleh sekitar 23,6 juta penduduk usia dewasa di negara tersebut. Jumlah tersebut merupakan 7,8% dari total populasi AS.

Diabetes juga merupakan salah satu penyebab kematian utama nomor 4 di Taiwan. Insiden DM Tipe-2 di Taiwan adalah 6,5 per 100.000 penduduk (Urakami *et. al.*, 2005).

Prevalensi diabetes mellitus di Asia Tenggara, khususnya di Indonesia cukup tinggi. Dari sekitar 100 juta penduduk dunia yang menderita DM, 7 juta di antaranya tinggal di Asia Tenggara. Sementara dibanding dengan negara-negara lainnya di dunia, Indonesia merupakan negara dengan jumlah kasus diabetes mellitus terbesar keempat pada tahun 2000 (Wild *et al.*, 2004).

Ulkus diabetik adalah salah satu komplikasi DM yang berupa lesi terbuka pada permukaan kulit yang disebabkan oleh beberapa faktor dan dapat memberikan dampak negatif pada kualitas hidup pasien DM (Armstrong DG *et.al.*, 2017). Menurut Frykberg (2006), luka diabetik adalah luka atau lesi pada pasien DM yang dapat mengakibatkan ulserasi aktif dan merupakan penyebab utama amputasi kaki. Peningkatan populasi penderita DM berdampak pada peningkatan kejadian ulkus kaki diabetik sebagai komplikasi kronis DM. Dimana sebanyak 15-25% penderita DM akan mengalami ulkus kaki diabetik di dalam hidup mereka (Singh, *et al.*, 2005). Risiko infeksi pada penderita ulkus kaki diabetik masih cukup tinggi yaitu 40-80%, sedangkan risiko amputasi sebesar 14-20%. Sebanyak 66% mengalami kekambuhan dan 12% memiliki risiko amputasi dalam 5 tahun setelah sembuh. (Frykberg, *et al.*, 2006)

### **2.1.2 Klasifikasi Diabetes Melitus**

Diabetes melitus adalah sekumpulan gejala yang ditunjukkan dengan kondisi hiperglikemia, yaitu keadaan dimana kadar gula darah seseorang berada

di atas batas normal (Harris M *et al.*, 1997). Perkeni (2002) menyatakan bahwa seseorang menderita DM apabila kadar gula darah puasa  $>126$  mg/dl, atau kadar gula darah sewaktu  $>200$  mg/dl. Diabetes Melitus dapat diklasifikasikan menjadi empat kelompok (Harris M *et al.*, 1997), yaitu sebagai berikut.

#### a. Diabetes Melitus Tipe-1

Diabetes Melitus Tipe-1 disebabkan oleh defisiensi hormon insulin karena kerusakan sel  $\beta$  pankreas, yang disebabkan oleh adanya reaksi autoimun. Destruksi sel  $\beta$  pankreas tersebut menyebabkan kadar insulin menjadi sangat rendah atau bahkan tidak ada sama sekali. Penderita Diabetes Melitus Tipe-1 bergantung pada insulin dari luar untuk bisa bertahan. Oleh karena itu, diabetes tipe ini biasa disebut juga dengan *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM). Diabetes Melitus Tipe-1 biasanya terjadi pada usia muda, yaitu sebelum usia 30-40 tahun namun, dapat juga menyerang berbagai usia.

#### b. Diabetes Melitus Tipe-2

Sebanyak 80% - 90% kasus Diabetes Melitus tergolong ke dalam Diabetes Melitus Tipe-2 atau *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM). Diabetes tipe ini terjadi karena resistensi insulin dan atau kurangnya sekresi insulin. NIDDM dapat disebabkan oleh faktor genetik maupun faktor gaya hidup atau lingkungan (Goldstein *et al.*, 2004). Pada penderita Diabetes Melitus Tipe-2, insulin yang dihasilkan oleh sel  $\beta$  pankreas tidak dapat memenuhi jumlah yang dibutuhkan. Hal ini menimbulkan terjadinya hiperglikemia (tingginya kadar gula di dalam darah) karena jumlah insulin yang dihasilkan kurang dari jumlah yang dibutuhkan. Diabetes Melitus Tipe-2 juga dapat terjadi karena kurangnya kepekaan reseptor insulin pada sel-sel sehingga meskipun jumlah insulin yang

dihasilkan cukup, namun sel tidak dapat mengangkat cukup glukosa dalam darah sehingga kadar glukosa darah tetap tinggi. Situasi ini dikenal dengan nama resistensi insulin.

#### c. Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes mellitus gestasional terjadi apabila seorang wanita pertama kali terdiagnosis mengalami intoleransi glukosa pada masa kehamilan. Artinya, jika terdapat kemungkinan bahwa diabetes terjadi sebelum masa kehamilan, maka tidak digolongkan sebagai diabetes gestasional (Hunt KJ *et al.*, 2007).

#### d. Diabetes Melitus Tipe Lainnya

Diabetes mellitus tipe lainnya juga disebut dengan diabetes sekunder (*secondary diabetes*). Penyebab dari diabetes mellitus tipe lain ini di antaranya kelainan pada fungsi sel beta dan kerja insulin akibat gangguan genetik, penyakit pada kelenjar eksokrin pankreas, obat atau zat kimia, infeksi, kelainan imunologi, dan sindrom genetik lain yang berhubungan dengan diabetes mellitus (Goldstein *et al.*, 2004).

### 2.1.3 Etiopatofisiologi Diabetes Melitus

Diabetes mellitus dibagi menjadi 2 kategori utama berdasarkan sekresi insulin endogen untuk mencegah munculnya ketoasidosis, yaitu (1) Diabetes mellitus tergantung insulin (IDDM = *insulin dependent diabetes mellitus*) atau tipe I, dan (2) Diabetes mellitus tidak tergantung insulin (NIDDM = *non-insulin dependent diabetes mellitus*) atau tipe II (Goldstein *et al.*, 2004). Diabetes mellitus (DM) tipe I diperantarai oleh degenerasi sel  $\beta$  Langerhans pankreas

akibat infeksi virus, pemberian senyawa toksin, diabetogenik (streptozotosin, aloksan), atau secara genetik (wolfram sindrom) yang mengakibatkan produksi insulin sangat rendah atau berhenti sama sekali. Hal tersebut mengakibatkan penurunan pemasukan glukosa dalam otot dan jaringan adiposa.

Secara patofisiologi, penyakit ini terjadi lambat dan membutuhkan waktu yang bertahun-tahun, biasanya terjadi sejak anak-anak atau awal remaja.

Penurunan berat badan merupakan ciri khas dari penderita DM I yang tidak terkontrol. Gejala yang sering mengiringi DM I yaitu poliuria, polidipsia, dan polifagia. Peningkatan volume urin terjadi disebabkan oleh diuresis osmotik (akibat peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemik) dan benda-benda keton dalam urin. Lebih lanjut, diuresis osmotik tersebut akan mengakibatkan kondisi dehidrasi, kelaparan dan shock. Gejala haus dan lapar merupakan akibat dari kehilangan cairan dan ketidakmampuan tubuh menggunakan nutrisi (Goldstein *et al.*, 2004).

Pada DM I, kadar glukosa darah sangat tinggi, tetapi tubuh tidak dapat memanfaatkannya secara optimal untuk membentuk energi. Oleh karena itu, energi diperoleh melalui peningkatan katabolisme protein dan lemak. Seiring dengan kondisi tersebut, terjadi perangsangan lipolisis serta peningkatan kadar asam lemak bebas dan gliserol darah. Dalam hal ini terjadi peningkatan produksi asetil-KoA oleh hati, yang pada gilirannya diubah menjadi asam asetoasetat dan pada akhirnya direduksi menjadi asam  $\beta$ -hidroksibutirat atau mengalami dekarboksilasi menjadi aseton. Pada kondisi normal, konsentrasi benda-benda keton relatif rendah karena insulin dapat menstimulasi sintesis asam lemak dan menghambat lipolisis. (Skyler *et al.*, 2016).

Secara patofisiologi, DM tipe II disebabkan karena dua hal yaitu (1) penurunan respon jaringan perifer terhadap insulin, peristiwa tersebut dinamakan resistensi insulin, dan (2) Penurunan kemampuan sel  $\beta$  pankreas untuk mensekresi insulin sebagai respon terhadap beban glukosa. Sebagian besar DM tipe II diawali dengan obesitas. Sebagai kompensasi, sel  $\beta$  pankreas merespon dengan mensekresi insulin lebih banyak sehingga kadar insulin meningkat (hiperinsulinemia). Konsentrasi insulin yang tinggi mengakibatkan reseptor insulin berupaya melakukan pengaturan sendiri (*self regulation*) dengan menurunkan jumlah reseptor atau *down regulation*. Hal ini membawa dampak pada penurunan respon reseptornya dan lebih lanjut mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Di lain pihak, kondisi hiperinsulinemia juga dapat mengakibatkan desensitisasi reseptor insulin pada tahap postreseptor, yaitu penurunan aktivasi kinase reseptor, translokasi *glucose transporter*. Kejadian ini mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Dua kejadian tersebut terjadi pada permulaan proses terjadinya DM tipe II.

Secara patologis, pada permulaan DM tipe II terjadi peningkatan kadar glukosa plasma dibanding normal, namun masih diiringi dengan sekresi insulin yang berlebihan (hiperinsulinemia). Hal tersebut mengindikasikan telah terjadi defek pada reseptor maupun postreseptor insulin. Pada resistensi insulin, terjadi peningkatan produksi glukosa dan penurunan penggunaan glukosa sehingga mengakibatkan peningkatan kadar gula darah (hiperglikemia). Seiring dengan kejadian tersebut, sel  $\beta$  pankreas mengalami adaptasi diri sehingga responnya untuk mensekresi insulin menjadi kurang sensitif, dan pada akhirnya membawa akibat pada defisiensi insulin. Sedangkan pada DM tipe II akhir telah terjadi penurunan kadar insulin plasma akibat penurunan kemampuan sel  $\beta$  pankreas

untuk mensekresi insulin, dan diiringi dengan peningkatan kadar glukosa plasma dibandingkan normal. Pada penderita DM II, pemberian obat-obat oral antidiabetes sulfonilurea masih dapat merangsang kemampuan sel  $\beta$  Langerhans pankreas untuk mensekresi insulin (Skyler *et al.*, 2016).

#### 2.1.4 Kriteria Diagnosis Diabetes Melitus

Menurut PERKENI (2002), Diagnosis DM ditegakkan atas dasar pemeriksaan kadar glukosa darah. Diagnosis tidak dapat ditegakkan atas dasar adanya glukosuria. Berbagai keluhan dapat ditemukan pada pasien diabetes. Keluhan klasik DM ada seperti poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya. Keluhan lain pula berupa lemah badan, kesemutan, gatal, mata kabur, dan disfungsi ereksi pada pria, serta pruritus vulvae pada wanita.

Diagnosis DM dapat ditegakkan melalui tiga cara:

1. Jika keluhan klasik ditemukan, maka pemeriksaan glukosa plasma sewaktu  $>200$  mg/dL atau
2. glukosa plasma puasa  $\geq 126$  mg/dL sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM.
3. Tes toleransi glukosa oral (TTGO). Apabila hasil pemeriksaan tidak memenuhi kriteria normal atau DM, bergantung pada hasil yang diperoleh, maka dapat digolongkan ke dalam kelompok toleransi glukosa terganggu (TGT) atau glukosa darah puasa terganggu (GDPT).

Diagnosis TGT ditegakkan bila setelah pemeriksaan TTGO didapatkan

glukosa plasma 2 jam setelah beban antara 140 – 199 mg/dL.

Diagnosis GDPT pula ditegakkan bila setelah pemeriksaan glukosa

plasma puasa didapatkan antara 100 – 125 mg/dL dan pemeriksaan

TTGO gula darah 2 jam < 140 mg/dL.

Apabila hasil pemeriksaan tidak memenuhi kriteria normal atau DM,

bergantung pada hasil yang diperoleh, maka dapat digolongkan ke dalam

kelompok toleransi glukosa terganggu (TGT) atau glukosa darah puasa

terganggu (GDPT).

1. TGT: Diagnosis TGT ditegakkan bila setelah pemeriksaan TTGO

didapatkan glukosa plasma 2 jam setelah beban antara 140 – 199

mg/dL (7,8-11,0 mmol/L).

2. GDPT: Diagnosis GDPT ditegakkan bila setelah pemeriksaan

glukosa plasma puasa didapatkan antara 100 – 125 mg/dL (5,6 – 6,9

mmol/L) dan pemeriksaan TTGO gula darah 2 jam < 140 mg/dL.

### 2.1.5 Komplikasi Diabetes Melitus

Komplikasi yang muncul akibat penyakit DM antara lain (Roglic G *et al.*, 2010):

a. Akut, meliputi koma hipoglikemia, ketoasidosis, dan koma Hiperglikemik

Hiperosmolar Nonketotik (HHNK). Koma hipoglikemia terjadi akibat terapi insulin,

ketoasidosis terjadi akibat proses pemecahan lemak secara terus-menerus yang

menghasilkan produk sampingan berupa benda keton yang bersifat toksik bagi

otak, sedangkan koma HHNK terjadi akibat hiperosmolaritas dan hiperglikemia



yang menyebabkan hilangnya cairan dan elektrolit sehingga terjadi perubahan tingkat kesadaran; dan

b. Kronik, meliputi makrovaskuler (mengenai pembuluh darah besar seperti pembuluh darah jantung, pembuluh darah tepi, dan pembuluh darah otak), mikrovaskuler (mengenai pembuluh darah kecil : retinopati diabetik, nefropati diabetik), neuropati diabetik, rentan infeksi, dan ulkus kaki diabetik. Komplikasi tersering dan paling penting adalah neuropati perifer yang berupa hilangnya sensasi distal dan berisiko tinggi untuk terjadinya ulkus diabetik dan amputasi (Perkeni, 2002).

#### 2.1.5.1 Ulkus Diabetik

Ulkus diabetik adalah salah satu komplikasi diabetes melitus berupa lesi terbuka pada permukaan kulit yang disebabkan oleh beberapa faktor dan dapat memberikan dampak negatif pada kualitas hidup pasien DM (Kirsner *et.al.*, 2010). Menurut Frykberg (2002), luka diabetik adalah luka atau lesi pada pasien DM yang dapat mengakibatkan ulserasi aktif dan merupakan penyebab utama amputasi kaki. Ulkus diabetik merupakan salah satu komplikasi DM yang paling menimbulkan kecemasan pada pasien DM karena kejadiannya selalu dikaitkan dengan amputasi kaki (Singh N *et al.*, 2005).

Ulkus diabetik disebabkan oleh beberapa faktor. Faktor tersering penyebab ulkus diabetik adalah neuropati, trauma, dan deformitas kaki, yang sering disebut dengan *Critical Triad of Diabetic Ulcers*. Ulkus diabetik merupakan penyebab tersering pasien harus diamputasi, sehingga faktor-faktor tersebut juga merupakan faktor predisposisi terjadinya amputasi (Frykberg, 2002).

Kelainan mikrosirkulasi terjadi di awal diabetes. Kelainan ini termasuk pengurangan ukuran kapiler, penebalan membrana basalis, dan *arteriolar hyalinosis*. Penebalan membrana basalis mengganggu proses pertukaran fisiologis darah, dan menyebabkan perubahan migrasi leukosit (berkontribusi terhadap infeksi), penurunan hiperemia maksimal, dan abnormalitas autoregulator (Calhoun JH *et al.*, 2002). Gangguan fungsi endotel dapat menyebabkan berkurangnya sintesa nitrit oksida. Walaupun oklusi lumener pada pembuluh darah kecil tidak terjadi, tetapi terjadi maldistribusi aliran darah yang tidak beralasan. Maldistribusi aliran darah juga dapat menjelaskan terbentuknya *Charcot foot*, yaitu dislokasi sendi, fraktur patologis, dan destruksi berat arsitektur kaki yang dapat memperburuk deformitas yang berakibat dramatis pada perubahan keselarasan tulang (Frykberg *et al.*, 2006).

Ada kaitan jelas antara vaskulopati dan neuropati pada kaki diabetik. Kolapsnya mikrosirkulasi, bersama dengan adanya denervasi saraf simpatis dan neuropati otonom, mengakibatkan maldistribusi aliran darah. *Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)*, enzim nukleus yang responsif terhadap kerusakan oksidatif pada DNA, juga dapat menyebabkan nekrosis sel dan perubahan reaktivitas mikroskopik. Pada neuropati diabetes, terjadi gangguan pada respon neurovaskular yang diperankan oleh serabut saraf *C-nociceptive* dan serat C yang berdekatan, menyebabkan defek sekresi zat P, *calcitonin gene-related peptide*, dan histamin. Oleh karena itu, vasodilatasi terganggu, terutama dalam situasi stres akibat trauma dan tekanan (Calhoun JH *et al.*, 2002).

Neuropati diabetik meliputi gangguan saraf motorik, sensorik, dan otonom yang masing-masing memegang peranan penting pada kejadian ulkus diabetik. Gangguan saraf motorik menyebabkan paralisis otot kaki yang dapat

menyebabkan terjadinya perubahan keseimbangan dan bentuk pada sendi kaki (deformitas), perubahan cara berjalan, dan menimbulkan titik tekan baru dan penebalan pada telapak kaki (kalus). Gangguan saraf sensorik menyebabkan mati rasa setempat dan hilangnya perlindungan terhadap trauma sehingga pasien mengalami cedera tanpa disadari. Gangguan saraf otonom mengakibatkan hilangnya sekresi keringat pada kulit, sehingga kulit menjadi kering dan mudah mengalami luka (Frykberg *et al.*, 2006).

Perubahan neuropati yang telah diamati pada kaki diabetik merupakan akibat langsung dari kelainan pada sistem persarafan motorik, sensorik dan autonomik. Kulit yang terbuka akan mengakibatkan masuknya bakteri dan menimbulkan infeksi. Berkurangnya sensibilitas kulit pada penonjolan tulang dan sela-sela jari sering menghambat deteksi dari luka-luka kecil pada kaki (Cavanagh PR *et al.*, 2010).

Infeksi bukan merupakan komponen triad patogenik pada perkembangan ulkus kaki diabetik, tetapi infeksi berperan dalam penyebab morbiditas, rawat inap, amputasi, dan gangguan penyembuhan luka diabetik. Peran infeksi pada awal perkembangan ulkus, terutama saat dikombinasikan dengan trauma tidak jelas. Ada beberapa alasan meningkatnya kejadian infeksi pada ulkus kaki diabetik dibandingkan dengan jenis luka kronis lainnya. Peranan stress dan gaya tekan mendukung pertumbuhan berlebih dari bakteri, dan juga menurunkan fungsi makrofag dan neutrofil. Namun, kombinasi dari banyak faktor, termasuk kelainan pembuluh darah, yang memiliki peran penting dalam komplikasi utama ulkus kaki diabetik. Infeksi bisa menyebar dengan cepat pada ulkus kaki diabetik.

Selulitis yang mengancam ekstremitas, abses, dan osteomielitis perlu mendapat perhatian segera (Cavanagh PR *et al.*, 2010).

Neuropati diabetik, trauma, dan deformitas merupakan penyebab utama ulkus diabetik. Penyebab lain yang turut menyebabkan ulkus diabetik adalah perubahan struktur anatomis, pengaruh lingkungan, dan penyakit vaskuler perifer. Perubahan struktur anatomis meliputi perubahan struktur plantar metatarsal, *plantar fatty pad*, dan *Charcot foot*. Pengaruh lingkungan meliputi penggunaan sepatu yang tidak layak, kalus, adanya benda-benda tajam, dan penggunaan kain yang kasar. Pasien DM yang memiliki beberapa faktor penyebab ulkus diabetik tersebut akan berisiko untuk mengalami ulkus diabetik yang berarti berisiko pula untuk mengalami amputasi (Frykberg *et al.*, 2006)

Menurut Wagner (1987), ulkus diabetik diklasifikasikan berdasarkan kedalaman ulkus dan ada tidaknya osteomyelitis atau gangren, yaitu:

- Derajat 0 : kulit utuh, tidak ada luka terbuka, namun ada kelainan pada kaki akibat neuropati. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Parisi *et.al.* (2016), ulkus diabetik derajat 0 lebih mudah mengalami penyembuhan daripada ulkus diabetik derajat lainnya;
- Derajat 1 : ulkus diabetik superfisial (sebagian atau seluruh permukaan kulit). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Parisi *et.al.* (2016), ulkus diabetik derajat 1 memiliki kemungkinan untuk sembuh sebesar 70,96%;
- Derajat 2 : ulkus meluas hingga ligamen, tendon, kapsul sendi, atau fasia dalam tanpa abses atau osteomyelitis. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Parisi *et.al.* (2016), ulkus diabetik derajat 2 memiliki kemungkinan untuk sembuh sebesar 41,27%;

- Derajat 3 : ulkus dalam dengan abses, osteomyelitis, atau sepsis sendi. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Parisi *et.al.* (2016), ulkus diabetik derajat 3 memiliki kemungkinan untuk sembuh sebesar 41,27%;
- Derajat 4 : gangren terlokalisasi pada bagian jari atau tumit. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Parisi *et.al.* (2016), ulkus diabetik derajat 4 biasanya muncul akibat kombinasi infeksi dan iskemia. Amputasi pada bagian gangren yang terlokalisasi merupakan hal yang sering dilakukan karena kemungkinan pasien untuk sembuh kecil; dan
- Derajat 5 : gangren yang meluas hingga seluruh kaki. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Parisi *et.al.* (2016), ulkus diabetik derajat 5 memiliki risiko tinggi untuk diamputasi dan kemungkinan untuk sembuh sangat kecil.



**Gambar 2.1 Klasifikasi Ulkus Diabetik (Wagner, 1987)**

### 2.1.5.2 Penatalaksanaan Ulkus Diabetik

Penatalaksanaan ulkus diabetik harus dilakukan secara menyeluruh (komprehensif) dan berpedoman pada karakteristik ulkus. Penatalaksanaan pada ulkus diabetik mencakup kontrol berbagai aspek (Frykberg, 2002), yaitu:

#### a. Kontrol metabolik

Kontrol metabolik dilakukan dengan cara menjaga kadar glukosa darah dalam batas normal. Pasien dapat melakukan pemeriksaan kadar glukosa darah secara mandiri atau ke fasilitas pelayanan kesehatan. Upaya kontrol metabolik dilakukan untuk mencegah hiperglikemia dan memperbaiki berbagai faktor yang dapat menghambat penyembuhan luka.

#### b. Kontrol vaskular

Kontrol vaskular dilakukan dengan cara menghindari atau memodifikasi faktor-faktor risiko yang dapat menyebabkan aterosklerosis (berhenti merokok, membatasi makanan berlemak, dan lain sebagainya) dan rekonstruksi pembuluh darah pada pasien iskemia. Rekonstruksi pembuluh darah dapat dilakukan dengan cara neovaskularisasi pada bagian distal agar aliran darah ke kaki meningkat. Tujuan rekonstruksi pembuluh darah adalah untuk membantu mempercepat penyembuhan luka, mengurangi nyeri, dan memperbaiki fungsi tubuh.

#### c. Kontrol luka

Kontrol luka dapat dilakukan dengan cara perawatan luka yang tepat, penggunaan teknik *dressing* dan agen topikal yang tepat pada luka, dan debridemen pada jaringan nekrosis. Tujuan perawatan luka adalah mencegah

dehidrasi dan kematian sel, mempercepat proses angiogenesis, dan memfasilitasi proses epitelisasi. Penggunaan teknik *dressing* yang tepat dapat membantu menjaga kelembapan area luka. Pemilihan agen topikal harus mempertimbangkan berbagai aspek, yaitu kemampuan agen dalam mengabsorpsi eksudat, membuang jaringan nekrosis dan kontaminasi bakteri, memberikan rehidrasi pada luka, dan kemampuan agen dalam mencapai dasar luka. Debridemen pada jaringan nekrosis merupakan suatu tindakan membuang jaringan mati, jaringan yang tercemar, dan menyisakan jaringan yang masih sehat. Debridemen dilakukan secara terus menerus selama proses pemulihan luka untuk mendukung *drainase* dan mempercepat penyembuhan luka.

#### d. Kontrol mikrobiologis

Kontrol mikrobiologis dilakukan untuk mencegah infeksi pada luka. Ulkus diabetik dapat menjadi tempat berkembang biak bakteri jika tidak dirawat dengan baik. Kultur jaringan harus dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri yang ada pada daerah ulkus sehingga dapat membantu dalam penentuan antibiotik yang tepat bagi pasien. Adanya pus atau lebih dari satu tanda inflamasi (bengkak, kemerahan, nyeri, terasa hangat, dan kehilangan fungsi) menjadi tanda berkembang biaknya bakteri pada daerah ulkus dan menyebabkan infeksi pada daerah ulkus.

#### e. Kontrol tekanan

Kontrol tekanan dilakukan dengan cara pengurangan beban pada kaki (*offloading*) yaitu dengan menghindari semua tekanan mekanis pada kaki yang terluka maupun pada kaki yang mengalami kalus. Pengurangan beban pada kaki dilakukan untuk mencegah trauma tambahan pada kaki dan mempercepat

proses penyembuhan luka. Penggunaan sepatu yang layak, tirah baring, mengurangi aktivitas berat, dan perawatan kaki merupakan cara yang dapat dilakukan untuk mengurangi beban pada kaki.

#### f. Kontrol edukasi

Kontrol edukasi dilakukan dengan cara memberikan edukasi mengenai pengelolaan ulkus diabetik dan pengelolaan DM secara mandiri. Pemberian edukasi yang tepat dapat meningkatkan pengetahuan, motivasi, dan keterampilan pasien serta merubah perilaku pasien dalam melakukan perawatan mandiri.

## 2.2 Streptozotocin

Streptozotocin merupakan antibiotik spektrum luas dengan aktivitas onkolitik, onkogenik, dan diabetogenik. Streptozotocin merupakan derivat *Streptomyces achromogenes* dan secara struktural merupakan turunan nitrosourea. Streptozotocin dapat digunakan untuk menginduksi DM tipe I dan tipe II yang diaplikasikan pada saat hewan percobaan masih pada tahap neonatal. Setelah bermur 8-10 minggu, tikus yang diinjeksi dengan streptozotocin pada saat neonatal akan menunjukkan gejala hiperglikemia ringan dan hilangnya sensitivitas sel  $\beta$  terhadap glukosa (Szkudelski, 2001).

Mekanisme kerja yang ditimbulkan dari streptozotocin bersifat toksik terhadap sel  $\beta$  pankreas, struktur streptozotocin sangat mirip dengan molekul glukosa sehingga akan ditranspor ke dalam sel oleh glucose transporter 2 (GLUT2) (Schnedl *et al.*, 1994). Sedangkan GLUT2 itu sendiri akan memperantarai sel  $\beta$  dalam mengambil glukosa dalam darah, sehingga



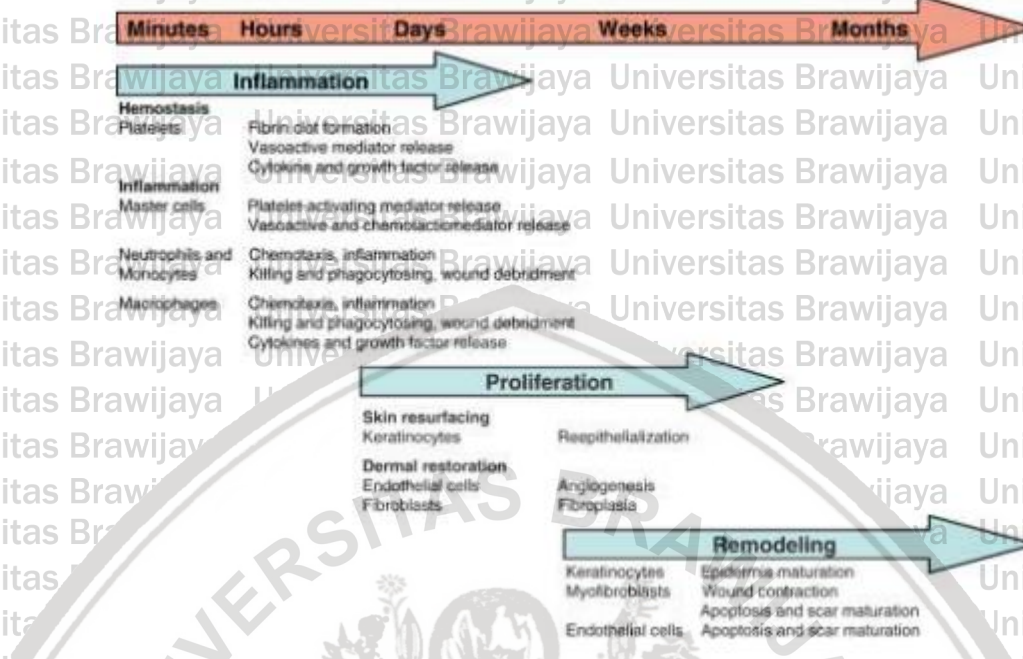
streptozotocin akan ikut diambil melalui proses pengambilan glukosa tersebut (Szkudelski, 2001). Pada rodensia GLUT2 diekspresikan dalam sel  $\beta$  pankreas, ginjal dan hati, sehingga dengan menurunnya ekspresi dari GLUT2 ini akan mencegah aksi streptozotocin dalam menimbulkan diabetes. Berbeda dengan GLUT2, GLUT1 yang merupakan isoform dari GLUT2, mempunyai afinitas yang rendah bahkan tidak ada sama sekali terhadap streptozotocin (sebagai substansi pentranspor), sehingga GLUT1 yang banyak diekspresikan pada sel  $\beta$  pankreas manusia bersifat resisten terhadap sifat toksik yang ditimbulkan oleh streptozotocin (Graham *et al.*, 2011).

Pada penyuntikan STZ secara intraperitoneal pada hewan coba terdapat 3 fase. Fase pertama dimulai dengan peningkatan kadar glukosa darah setelah satu jam paska penyuntikan. Fase ini menunjukkan berkurangnya kadar insulin pada darah yang berlangsung 2 sampai 4 jam. Fase kedua terjadi hipoglikemia yang berlangsung selama 4 sampai 8 jam paska penyuntikan. Pemberian konsentrat glukosa sangat diperlukan untuk mencegah kematian akibat hipoglikemia. Hipoglikemia terjadi akibat pecahnya sel  $\beta$  pankreas yang mengandung insulin. Pecahnya sel diakibatkan oleh toksisitas STZ. Insulin kemudian akan beredar ke pembuluh darah dan berikatan dengan reseptor di sel lemak dan sel otot, menyebabkan penurunan kadar glukosa dengan cepat. Fase ketiga terjadi peningkatan kadar glukosa darah yang permanen dengan adanya kerusakan yang hampir menyeluruh pada sel  $\beta$  pankreas setelah 12-24 jam paska penyuntikan. (Szkudelski *et al.*, 2001)

### 2.3 Proses Penyembuhan Luka

Rangsangan eksogen dan endogen dapat menimbulkan kerusakan sel, dan selanjutnya memicu reaksi vaskuler kompleks pada jaringan. Penyembuhan luka merupakan proses terus menerus dari peradangan sampai dengan perbaikan, dimana sel-sel inflamasi, epitel, endotel, trombosit dan fibroblas keluar secara bersamaan dari tempatnya dan berinteraksi memulihkan kerusakan. Setelah terjadi luka segera dimulai hemostasis berupa vasokonstriksi, agregasi trombosit, dan proses pembekuan darah berkepanjangan (Gonzalez *et al.*, 2016).

Bekuan darah ini akan berfungsi sebagai pertahanan terhadap kontaminasi bakteri dan mencegah kehilangan cairan. Terbentuk fibrin, fibronectin, asam hialuronik yang akan menginfiltrasi daerah luka membentuk matriks ekstraseluler. Pembentukan matriks ini akan berfungsi sebagai perekat sel dan jalur masuk sel ke daerah luka. Penyembuhan luka merupakan suatu proses kompleks yang merupakan hasil interaksi antara seluler, humoral, dan elemen-elemen jaringan ikat (Gurtner, 2007). Proses perbaikan luka berbeda antara jaringan satu dengan yang lain tergantung dari jenis luka. Pada proses penyembuhan luka elemen yang berbeda secara kontinyu dan bersamaan bekerja secara terintegrasi, tetapi untuk keperluan deskriptif dibedakan menjadi beberapa fase yang saling tumpang tindih yakni fase inflamasi, fase migrasi atau proliferasi atau fase granulasi dan fase maturasi atau remodeling. Pada setiap fase penyembuhan tersebut terdapat satu jenis sel khusus yang mendominasi (Gambar 2.2).



Gambar 2.2 Fase Penyembuhan Luka (Gurthner, 2007)

### 1. Fase inflamasi

Fase inflamasi berlangsung sejak terjadinya luka sampai kira-kira hari kelima, dan menjamin terjadinya homeostasis dan mencegah terjadinya infeksi invasif oleh mikroba patogen. Pembuluh darah yang terputus pada luka akan menyebabkan perdarahan dan tubuh akan berusaha menghentikannya dengan vasokonstriksi, pengerutan ujung pembuluh yang putus (retraksi) dan reaksi hemostasis. Hemostasis terjadi karena trombosit yang keluar dari pembuluh darah saling melekat, dan bersama jala fibrin yang terbentuk, membekukan darah yang keluar dari pembuluh darah (Gurtner, 2007).

Platelet tidak hanya berfungsi membentuk bekuan darah tetapi juga menghasilkan beberapa growth factor seperti *platelet-derived growth factor*

(PDGF), *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), *epidermal growth factor* (EGF), *fibroblast growth factor* (FGF), dan *transforming growth factor- $\beta$*  (TGF- $\beta$ ). *Growth factor* tersebut berfungsi untuk merangsang pertumbuhan dan proliferasi dari sel-luka seperti keratinosit dan fibroblas untuk bermigrasi ke dalam ruang luka (Gonzalez *et al.*, 2016).

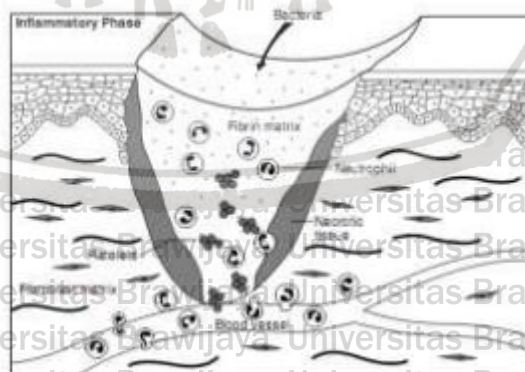
Berbagai mediator inflamasi yakni *prostaglandin*, *interleukin-1* (IL-1), *tumor necrosis factor* (TNF), C5a, TGF- $\beta$  dan produk degradasi bakteri seperti lipopolisakarida (LPS) akan menarik sel neutrofil sehingga menginfiltrasi matriks fibrin dan mengisi kavitas luka seperti yang terlihat pada gambar 2.4 Migrasi neutrofil ke luka juga dimungkinkan karena peningkatan permeabilitas kapiler akibat terlepasnya serotonin dan histamin oleh sel mast dan jaringan ikat. Neutrofil pada umumnya akan ditemukan pada 2 hari pertama dan berperan penting untuk memfagositosis jaringan mati dan mencegah infeksi. Keberadaan neutrofil yang berkepanjangan merupakan tanda terjadinya konversi dari luka akut menjadi luka kronis yang tak kunjung sembuh (Gonzalez *et al.*, 2016).

Makrofag juga akan mengikuti neutrofil menuju luka setelah 48-72 jam dan menjadi sel dominan setelah hari ketiga pasca trauma. Debris dan bakteri akan difagositosis oleh makrofag. Makrofag juga berperan utama memproduksi berbagai *growth factor* yang dibutuhkan dalam produksi matriks ekstraseluler oleh fibroblas dan pembentukan neovaskularisasi. Keberadaan makrofag oleh karenanya sangat penting dalam fase penyembuhan ini (Gurtner, 2007).

Selain melalui proses fagositosis, neutrofil dan makrofag juga berperan dalam eliminasi bakteri dengan cara memproduksi dan melepaskan beberapa proteinase dan *reactive oxygen species* (ROS). ROS melalui sifat radikal

bebasnya penting dalam mencegah infeksi bakterial, namun tingginya kadar ROS secara berkepanjangan juga akan menginduksi kerusakan sel tubuh lainnya. ROS juga mengaktifasi dan mempertahankan kaskade asam arakidonat yang akan memicu ulang timbulnya berbagai mediator inflamasi lagi seperti prostaglandin dan leukotrien, sehingga proses inflamasi akan menjadi berkepanjangan (Gonzalez *et al.*, 2016).

Limfosit dan sel mast merupakan sel terakhir yang bergerak menuju luka dan dapat ditemukan pada hari kelima sampai ketujuh pasca trauma (Gurtner, 2007). Fase ini disebut juga *lag phase* atau fase lamban karena reaksi pembentukan kolagen baru sedikit, belum ada *tensile strength*, di mana pertautan luka hanya dipertahankan oleh fibrin dan fibronektin. Aktivitas seluler yang terjadi adalah pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah (diapedesis) menuju luka karena daya kemotaksis. Leukosit mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna bakteri dan kotoran luka. Limfosit dan monosit yang kemudian muncul ikut menghancurkan dan memakan kotoran luka dan bakteri (fagositosis) (Gurtner, 2007).



**Gambar 2.3 Fase Inflamasi Pada Penyembuhan Luka (Gurtner, 2007)**

## 2. Fase proliferasi

Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia karena yang menonjol adalah fase proliferasi fibroblas yang berlangsung mulai hari ke-4 hingga hari ke-21 pasca trauma. Pada gambar 2.5 tampak bahwa keratinosit yang berada pada tepi luka sesungguhnya telah mulai bekerja beberapa jam pasca trauma, menginduksi terjadinya re-epitelialisasi. Pada fase ini matriks fibrin yang didominasi oleh platelet dan makrofag secara gradual digantikan oleh jaringan granulasi yang tersusun dari kumpulan fibroblas, makrofag dan sel endotel yang membentuk matriks ekstraseluler dan neovaskular (Gurtner, 2007). Fibroblas berasal dari sel mesenkim yang belum terdiferensiasi, menghasilkan mukopolisakarida, asam aminoglisin, dan prolin yang merupakan bahan dasar kolagen serat yang akan mempertautkan tepi luka.

Pada fase ini, serat-serat dibentuk dan dihancurkan kembali untuk penyesuaian diri dengan tegangan pada luka yang cenderung mengerut. Sifat ini, bersama dengan sifat kontraktif miofibroblast, menyebabkan tarikan pada tepi luka. Pada akhir fase ini, kekuatan regangan luka mencapai 25% jaringan normal. Nantinya, akhir proses penyembuhan luka, kekuatan serat kolagen bertambah karena ikatan intramolekul dan antarmolekul (Gurtner, 2007).

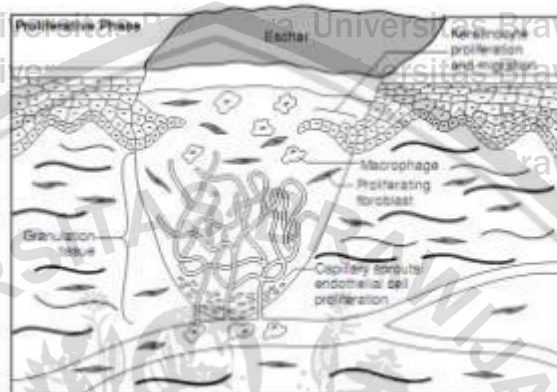
Pada fase fibroplasia ini, luka dipenuhi oleh sel radang, fibroblas, dan kolagen, membentuk jaringan berwarna kemerahan dengan permukaan berbenjol halus yang disebut jaringan granulasi. Epitel tepi luka yang terdiri atas sel basal terlepas dari dasarnya dan berpindah mengisi permukaan luka.

Tempatnya kemudian diisi oleh sel baru yang terbentuk dari proses mitosis.

Proses migrasi hanya terjadi ke arah yang lebih rendah atau datar. Proses ini

baru berhenti setelah epitel saling menyentuh dan menutup permukaan luka.

Pada saat permukaan luka sudah tertutup, proses fibroplasia dengan pembentukan jaringan granulasi juga akan terhenti dan mulailah proses pematangan dalam fase penyudahan (Gonzalez *et al.*, 2016).



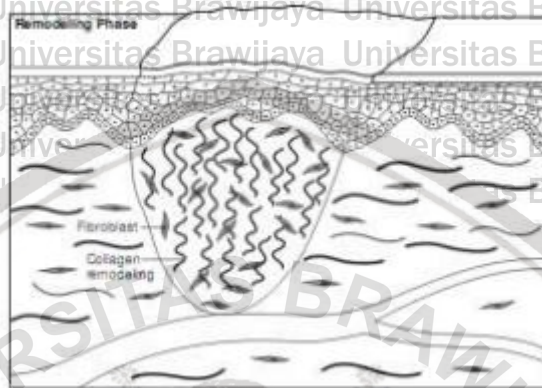
**Gambar 2.4. Fase Proliferasi Pada Penyembuhan Luka (Gurtner, 2007)**

### 3. Fase *remodelling*

Fase *remodelling* merupakan fase penyudahan dari penyembuhan luka dan merupakan fase terlama yang berlangsung dari hari ke-21 dan bisa sampai 1 tahun. Pada gambar 4 tampak bahwa pada fase ini dimulai segera setelah kavitas luka terisi oleh jaringan granulasi dan proses reepitelialisasi usai. Tubuh berusaha menormalkan kembali semua yang menjadi abnormal karena proses penyembuhan. Edema dan sel radang diserap, sel muda menjadi matang, kapiler baru menutup dan diserap kembali, kolagen yang berlebih diserap, dan sisanya mengerut sesuai dengan regangan yang ada (Gurtner, 2007).

Selama proses ini dihasilkan jaringan parut yang pucat, tipis dan lemas, serta mudah digerakkan dari dasar. Terlihat pengerutan maksimal pada luka.

Pada akhir fase ini, perupaan kulit mampu menahan regangan kira-kira 80% kemampuan kulit normal. Hal ini tercapai kira-kira 3-6 bulan setelah penyembuhan (Gonzalez *et al.*, 2016).



**Gambar 2.5. Fase Remodelling Pada Penyembuhan Luka (Gurtner, 2007)**

### 2.3.1 Peran Angiogenesis dalam Fase Penyembuhan Luka

Angiogenesis adalah proses pembentukan kapiler pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF), angiopoietins, *fibroblast growth factor* (FGF), dan *transforming growth factor beta* (TGF- $\beta$ ) adalah faktor-faktor pertumbuhan yang sangat penting dalam proses angiogenesis pada luka. Ekspresi dari faktor-faktor angiogenik tersebut, sangat esensial dalam proses angiogenesis pada penyembuhan luka.

Berdasarkan aksi dan targetnya, faktor-faktor angiogenik dapat dikategorikan menjadi 3 kelompok yaitu (Frisca, 2009) :



1) Angiogenik *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan angiogenin yang dapat menginduksi pembelahan pada sel endotel. VEGF mempunyai pengaruh penting pada proses angiogenesis sebagai mitogen spesifik tertinggi dalam sel endotel.

2) Molekul yang mengaktivasi sel target secara luas selain sel endotel. Beberapa sitokin, kemokin, dan enzim angiogenik termasuk dalam kelompok ini. *Fibroblast Growth Factor* (FGF)-2 merupakan sitokin kelompok ini yang pertama kali di karakterisasi.

3) Faktor yang bekerja tidak langsung. Faktor-faktor angiogenik pada kelompok ini dihasilkan dari makrofag, sel endotel, atau sel tumor.

Kelompok faktor yang paling banyak dipelajari adalah *Tumor Necrosis Factor Alfa* (TNF- $\alpha$ ) dan *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- $\beta$ ) yang menghambat proliferasi sel endotel *in vitro*. Secara *in vivo*, (TGF- $\beta$ ) menginduksi angiogenesis dan menstimulasi ekspresi (TNF- $\alpha$ ), FGF-2, *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF), dan VEGF dengan menarik sel-sel inflamasi.

Angiogenesis merupakan proses yang penting dalam penyembuhan luka.

Pembuluh darah yang baru terbentuk berpartisipasi dalam pembentukan jaringan granulasi serta memberikan nutrisi dan oksigen ke jaringan. Selain itu, sel-sel radang membutuhkan interaksi dan transmigrasi melalui endotel pembuluh darah untuk masuk ke tempat cedera. Angiogenesis, pada cedera jaringan adalah proses dinamis yang diregulasi oleh sinyal dari serum dan matriks ekstraselular (ECM) jaringan (Tonnesen MG *et al.*, 2000).

Angiogenesis yang merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru, merupakan kompleks proses yang terdiri dari 4 tahap :

- a) Pemecahan membran basalis di sekitar pembuluh darah oleh enzim protease yang disekresi oleh sel endothel.
- b) Migrasi sirkulasi sel endothel ke tempat pembentukan pembuluh darah, yang akan berproliferasi menjadi pembuluh darah.
- c) Proliferasi dan diferensiasi dari sel endothel yang akan digunakan dalam pembuluh darah baru
- d) Sekresi dari *growth factor* oleh sel endothel, yang akan menyokong sel perisit dan otot polos yang akan membentuk membrana basalis. Sel-sel penyokong dan membrana basalis berperan penting dalam fungsi dan stabilitas dari pembuluh darah baru tersebut.

Sel-sel mikrovaskular endotel adalah sel parenkim utama yang terlibat dalam proses angiogenesis pada penyembuhan luka. Sel-sel ini sangat berbeda dari sel-sel endotel yang melapisi pembuluh darah yang lebih besar dari sistem sirkulasi. Sebagai respon dari cedera, sel mikrovaskular endotel memulai proses angiogenik yang terdiri dari induksi hiperpermeabilitas mikrovaskuler, degradasi membran basal lokal, migrasi dan *sprouting* ke stroma, proliferasi sel dan pembentukan jaringan granulasi, rekonstruksi membran basal, pembentukan pembuluh darah baru, stabilisasi, dan akhirnya regresi dan involusi pembuluh darah yang baru terbentuk sebagai remodeling jaringan (Tonnesen MG *et al.*, 2000).

## 2.4 Penyembuhan Luka pada Ulkus Diabetik

Pada proses penyembuhan luka normal, tahapan fase-fase yang dilalui telah dipahami secara menyeluruh sebagai dasar proses biologis dari penyembuhan luka. Tetapi, tidak dapat dipungkiri bahwa selama proses penyembuhan luka dapat terjadi komplikasi termasuk infeksi, thrombosis, dan iskemia. Hasil yang didapatkan dari studi eksperimental yang telah dilakukan masih belum dapat menjelaskan secara menyeluruh tentang proses penyembuhan luka pada kondisi diabetes melitus. (Falanga, 2005)

Studi eksperimental dan klinis menunjukkan bahwa ulkus diabetik dan jenis luka kronis lainnya tidak mengikuti pola klasik penyembuhan luka. Beberapa fase dari penyembuhan luka kronis menetap di fase tertentu, karena kehilangan kondisi ideal untuk terjadinya proses penyembuhan luka yang normal. Pada ulkus diabetik kelainan penyembuhan luka disebabkan oleh beberapa faktor intrinsik (neuropati, vaskulopati, dan komplikasi sistemik lain akibat diabetes) dan juga faktor ekstrinsik (infeksi, formasi kalus, dan tekanan berlebih pada luka).

Pada penderita diabetes melitus terjadi disfungsi sel endotel sehingga menyebabkan kerusakan fungsi barier sel endotel, ketidakseimbangan antara vasodilatasi dan vasokonstriksi, dan pencegahan adhesi maupun diapedesis dari sel darah putih. Penelitian menunjukkan bahwa sumber utama dari ion superoksida vaskuler dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) terjadi melalui *nicotinamide-adenine-dinucleotide- (NADH-) dependent oxidase (NOX)*. NOX adalah enzim transmembran yang menghasilkan superoxide dengan transfer elektron dari NADPH oksigen molekular. Produk dari reaksi ini adalah  $O_2^-$ , yang

mengalami reaksi sekunder.  $O_2^-$  mengurangi NO untuk menghasilkan *peroxynitrite* dan juga dapat membentuk  $H_2O_2$  (Jeffcoate WJ, 2003).

ROS derivat dari NADPHoxidase dapat menurunkan bioavailabilitas NO (Martin A, 2003). Pada kondisi patologis seperti diabetes, atherosklerosis, hipertensi, *cardiac failure*, dan *ischemia reperfusion injury*, disfungsi endotel terjadi akibat ROS *generation*, proliferasi sel, inflamasi, deposisi matriks ekstraselular, fibrosis, dan angiogenesis (Falanga, 2005). Glukosa yang meningkat menyebabkan penurunan L-*arginine* dan BH4, yang menyebabkan penurunan produksi NO pada sel endotel. Semua faktor ini bersifat proinflamasi dan atherogenik.

Beberapa sel residen pada area ulkus diabetes berubah secara fenotipik. Fibroblas yang diisolasi dari ulkus penderita diabetes mengalami penuaan dan menunjukkan penurunan respons proliferaatif terhadap faktor pertumbuhan. Studi serupa pada jenis luka kronis lainnya menunjukkan hasil yang mendukung temuan ini, dimana terdapat penurunan respon fibroblas terhadap  $TGF\beta_1$ , *platelet-derived growth factor*, dan sitokin lainnya. Bukti menunjukkan bahwa perubahan fenotipik pada sel di area luka tidak hanya karena proses penuaan, tetapi lebih disebabkan oleh interaksi kompleks antara sel residen dan luka kronis. Fibroblas pada luka kronis terlihat mengalami penurunan ekspresi reseptor tipe 2  $TGF\beta$  (Jeffcoate WJ, 2003).

Kelainan seluler lainnya yang ada pada diabetes adalah makrofag pada diabetes menunjukkan penurunan pelepasan sitokin termasuk *tumour necrosis factor  $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *interleukin  $1\beta$* , dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF).

Aktivasi berlebihan pada beberapa *matrix metalloproteinase* (MMPs), seperti

MMP9, dapat mengganggu migrasi sel dan menyebabkan pemecahan pada sejumlah matriks protein yang diperlukan dan juga faktor pertumbuhan. Meskipun tidak ada bukti langsung bahwa aktivitas proliferasi keratinosit dipengaruhi oleh diabetes, migrasi keratinosit mungkin terganggu dan dibutuhkan studi lebih lanjut dari sel ulkus diabetes (Falanga, 2005).

## 2.5 Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.)

Ubi jalar atau disebut ketela rambat atau "sweet potato" diduga berasal dari Benua Amerika. Para ahli botani dan pertanian memperkirakan daerah asal tanaman ubi jalar adalah Selandia Baru, Polinesia, dan Amerika bagian tengah. Nikolai Ivanovich Vavilov, seorang ahli botani Soviet, memastikan daerah sentrum primer asal tanaman ubi jalar adalah Amerika Tengah. Ubi jalar mulai menyebar ke seluruh dunia, terutama negara-negara beriklim tropika pada abad ke-16. Orang-orang Spanyol menyebarkan ubi jalar ke kawasan Asia, terutama Filipina, Jepang, dan Indonesia (Woolfe JA, 1992).

Umbi dari tanaman ubi jalar merupakan salah satu dari sumber karbohidrat terpenting di dunia terutama Asia dan Afrika. Warna kulit umbi beragam mulai dari putih, kuning, coklat, merah, hingga ungu. Seperti hanya kulit umbi, daging ubi jalar juga beragam warnanya, yaitu putih, kuning, oranye, merah, atau ungu.

Ubi jalar dengan warna daging ungu yang tampak pada Gambar 2.6, banyak digunakan sebagai sumber pewarna alami. Ubi jalar terdiri atas batang, daun, bunga, buah (umbi), dan biji. Batang tanaman berbentuk bulat, berbuku-buku, dan tumbuh tegak atau merambat (menjalar). panjang batang tanaman tipe tegak antara 1 m - 2 m, sedangkan pada tipe merambat (menjalar) antar 2 m - 3 m.

Ukuran batang terdiri dari tiga jenis, yaitu besar, sedang, dan kecil. Biasanya batang berwarna hijau tua sampai keungu-unguan (Bovell, 2007).



**Gambar 2.6** Umbi ubi jalar ungu (Bovell, 2007)

Menurut ilmu taksonomi, tanaman ubi jalar berwarna ungu dimasukkan dalam klasifikasi sebagai berikut (Huaman, 1992) :

- Kingdom : *Plantae* (tumbuhan)
- Divisi : *Spermatophyta* (menghasilkan biji)
- Subdivisi : *Angiospermae* (berbiji tertutup)
- Kelas : *Dicotyledonae* (biji berkeping dua)
- Ordo : *Convolvulales*
- Famili : *Convolvulaceae* (suku kangkung-kangkungan)
- Genus : *Ipomea*
- Spesies : *Ipomea batatas* L. *sin batatas edulis* choisy

### 2.5.1 Kandungan Gizi dan Fungsional Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)

Ubi jalar ungu sebagai bahan pangan, memiliki mutu yang baik ditinjau dari kandungan gizinya, terutama karbohidrat, mineral, dan vitamin (Tabel 1).

Kandungan vitamin A pada ubi jalar dalam bentuk provitamin A mencapai 9.000 SI/100 g, terutama ubi jalar yang daging umbinya berwarna orange atau jingga.

Vitamin B1, B6, niasin dan vitamin C, cukup memadai jumlahnya pada ubijalar.

Kandung kalium, fosfor, kalsium, natrium, dan magnesium pada ubijalar juga tinggi (Bovell, 2007).

Namun kadar protein dan lemak ubi jalar rendah, sehingga konsumsinya perlu didampingi oleh bahan pangan lain yang berprotein tinggi. Perhatian masyarakat terhadap ubijalar meningkat terutama berkaitan dengan potensinya sebagai pangan fungsional yang memberi dampak positif terhadap kesehatan.

Pada ubijalar, pangan fungsional diperoleh dari betakaroten dan antosianin, senyawa fenol, serat pangan, dan nilai indeks glikemiknya (*Glycemic Index*).

Pada ubijalar ungu, kandungan antosianin dan senyawa fenol cukup tinggi dan dapat berfungsi sebagai antioksidan (Woolfe JA, 1992).

Ubi jalar mengandung antioksidan yang menguntungkan bagi kesehatan.

Ubi jalar mengandung  $\beta$ -karoten yang cukup tinggi dibanding dengan jenis tanaman lainnya yaitu mencapai 7100 IU. Total kandungan antosianin ubi jalar varietas Ayamurasaki bervariasi pada setiap tanaman, yaitu berkisar antara 20mg/100mg sampai 924 mg/100 g berat basah. Pigmennya lebih stabil dibandingkan antosianin dari sumber lain, seperti kubis merah, elderberi, bluberi, dan jagung merah. Kandungan nutrisi ubi jalar ungu juga lebih tinggi dari ubi jalar varietas lain, terutama kandungan lisin, Cu, Mg, K, Zn yang berjumlah rata-rata

20% (Woolfe JA, 1992). Pada penelitian uji toksisitas yang dilakukan Ratnawati et al., 2018 pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) pada dosis 2000 mg/kg secara oral yang diberikan sekali pada tikus tidak ditemukan adanya perubahan yang signifikan pada gambaran histopatologi hati dan ginjal.

**Tabel 2.1 Kandungan Gizi Ubi Jalar Berdasarkan Warna Daging Umbi.**

Gizi	Ubi Putih	Ubi Kuning	Ubi Ungu
Pati (%)	28,79	24,47	22,64
Gula reduksi (%)	0,32	0,11	0,30
Lemak (%)	0,77	0,68	0,94
Protein (%)	0,89	0,49	0,77
Air (%)	62,24	68,78	70,46
Abu (%)	0,93	0,99	0,84
Serat (%)	2,79	2,79	3,00
Vitamin C (mg/100gr)	28,68	25,00	21,43
Vitamin A (SI) <sup>a</sup>	60,00	9.000,00	-
Antosianin (mg/100gr)	-	-	110,51

Sumber: Suprpta (2003) dalam Arixs (2006); Direktorat Gizi Depkes RI (1981) dalam Direktorat Kacang-kacangan dan Umbi-umbian (2002).



## 2.5.2 Peran Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.) perhadap Penyembuhan Luka

Ubi jalar mengandung senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan ( $\beta$ -karoten dan antioksidan) pada daging umbinya. Antioksidan adalah senyawa yang penting bagi kesehatan karena dapat mengurangi resiko berbagai penyakit (Crozier A, 2007). Antosianin yang terkandung dalam ubi jalar juga memiliki fungsi fisiologis seperti antioksidan, antikanker, antibakteri, perlindungan terhadap kerusakan hati, pencegah penyakit jantung, dan stroke.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Panda *et al.*, menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari umbi ubi jalar putih yang digunakan sebagai pembalut luka insisi dan eksisi pada tikus wistar. Pada model luka insisi, kekuatan tensile luka pada tikus yang diberi pembalut dengan ekstrak ubi jalar putih, menunjukkan adanya peningkatan kekuatan tensile luka yang mungkin disebabkan oleh peningkatan konsentrasi kolagen dan stabilisasi dari fiber yang memfasilitasi proses penyembuhan luka. Adanya peningkatan pada kekuatan tensile luka mengindikasikan adanya promosi dan deposisi kolagen pada luka. Pada model luka eksisi, penutupan luka yang signifikan diamati pada hari ke-4. Pada tikus yang diberi pembalut luka dengan ekstrak, menunjukkan adanya peningkatan *hydroxyproline* sebagai indikasi meningkatnya sintesis kolagen, dan peningkatan kadar vitamin c menunjukkan status antioksidan yang baik pada luka, dimana adanya antioksidan dapat membantu proses penyembuhan luka.

Ubi jalar ungu (*Ipomea batatas*) memiliki kandungan asam fenolik, flavonoid, dan antosianin yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan dapat menurunkan kerusakan jaringan akibat stres oksidatif dari aktivitas ROS (Crozier

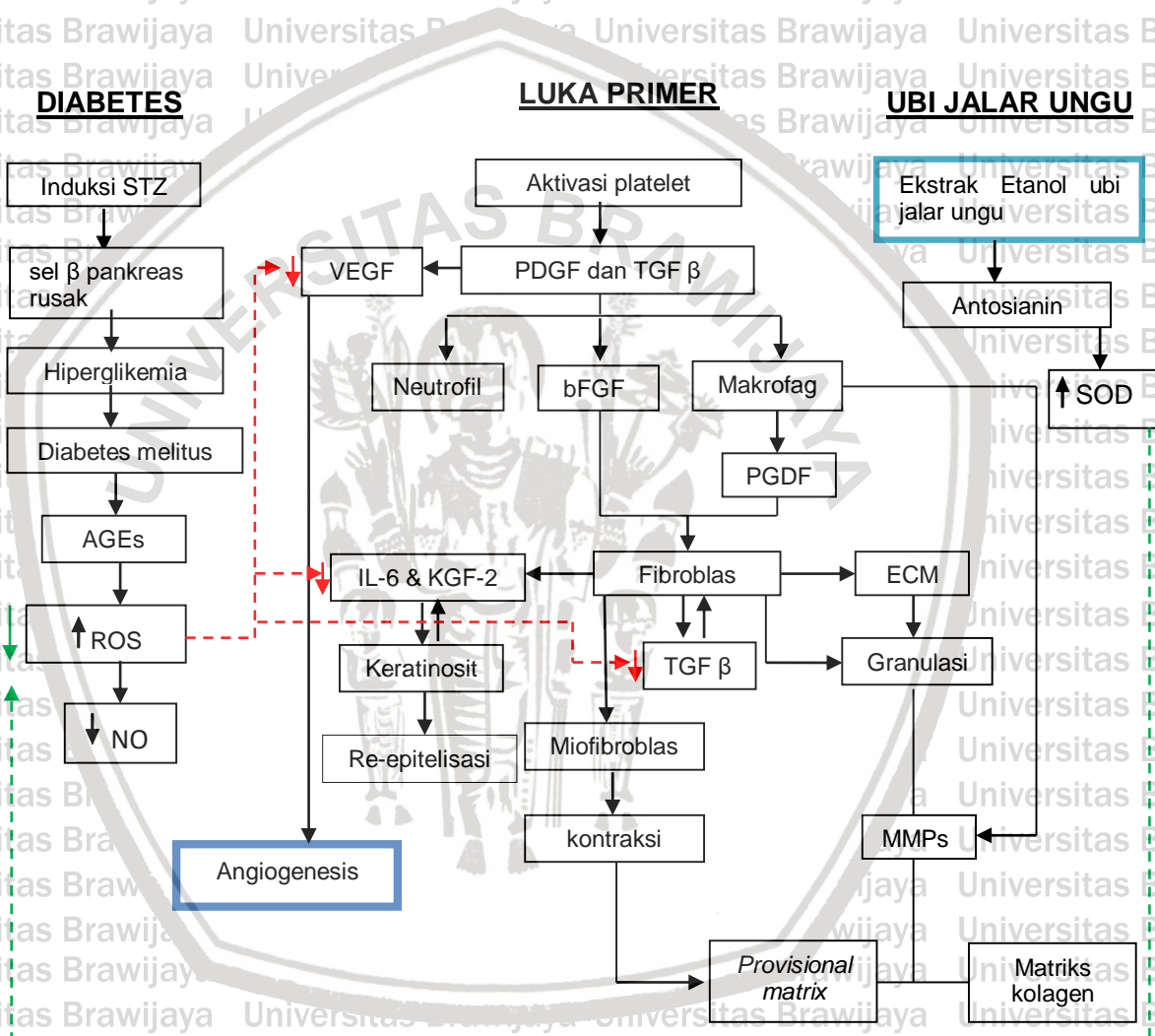
A, 2007). Konsentrasi tinggi antosisanin dari ubi jalar ungu dapat meningkatkan inhibisi sel pro-inflamasi . Asam askorbat diketahui sebagai inhibitor enzim aldose reduktase dapat mencegah penumpukan sorbitol pada jaringan. Asam askorbat mengubah glutathion teroksidasi menjadi glutathion tereduksi, sehingga NO meningkat. Asam askorbat dapat menghambat masuknya glukosa melalui GLUT transporter ke dalam sel, sehingga dapat mengurangi gangguan vasodilatasi tergantung sel endotel. Ekstrak ethanol ubi jalar ungu dapat menurunkan ROS dan meningkatkan ekspresi (sodium dismutase) SOD-2, SOD-3, dan eNOS. Hal tersebut diakibatkan oleh adanya flavonoid dan antosisinin. SOD adalah antioksidan endogen yang memiliki kemampuan yang kuat untuk menguraikan superoksida, sehingga menurunkan ROS (Panda *et al.*, 2011).



### BAB 3

## KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:



: Menginduksi



: Pengaruh diabetes melitus terhadap penyembuhan luka



: Pengaruh ubi jalar ungu terhadap luka diabetik

: Variabel penelitian

### 3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Induksi streptozotocin pada hewan coba tikus *Rattus norvegicus* Strain

Wistar menyebabkan kerusakan sel  $\beta$  pankreas, sehingga terjadi kelainan pada produksi insulin yang menyebabkan hiperglikemia dan membuat tikus dalam kondisi diabetes melitus. Diabetes melitus dapat menyebabkan komplikasi yang diakibatkan oleh kerusakan jaringan dengan berbagai mekanisme, salah satunya peningkatan *advanced glycation end products* (AGEs) yang bersifat merusak sel, dengan meningkatkan *reactive oxygen species* (ROS) dan mencegah produksi antioksidan endogen. Peningkatan ROS menyebabkan *eNOS uncoupling*, sehingga menyebabkan berkurangnya produksi *Nitric oxide* (NO) pada sel endotel pembuluh darah. Saat terjadi luka pada penderita diabetes melitus, proses penyembuhan luka menjadi memanjang atau kronis diakibatkan oleh peningkatan ROS dan penurunan dari NO atau bisa disebut disfungsi endotel.

Pada penyembuhan luka terjadi aktivasi platelet, kemudian terjadi pengeluaran sitokin proinflamasi dan faktor pertumbuhan, yaitu *platelet derived growth factor* (PDGF), *transforming growth factor  $\beta$*  (TGF  $\beta$ ), dan *basic fibroblast growth factor* (bFGF). Selain itu, terjadi vasokonstriksi yang menyebabkan kondisi hipoksia dan menstimulasi pengeluaran *vascular endothelial growth factor* (VEGF).

Angiogenesis adalah proses pembentukan kapiler pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF), *fibroblast growth factor* (FGF), dan *transforming growth factor beta* (TGF-

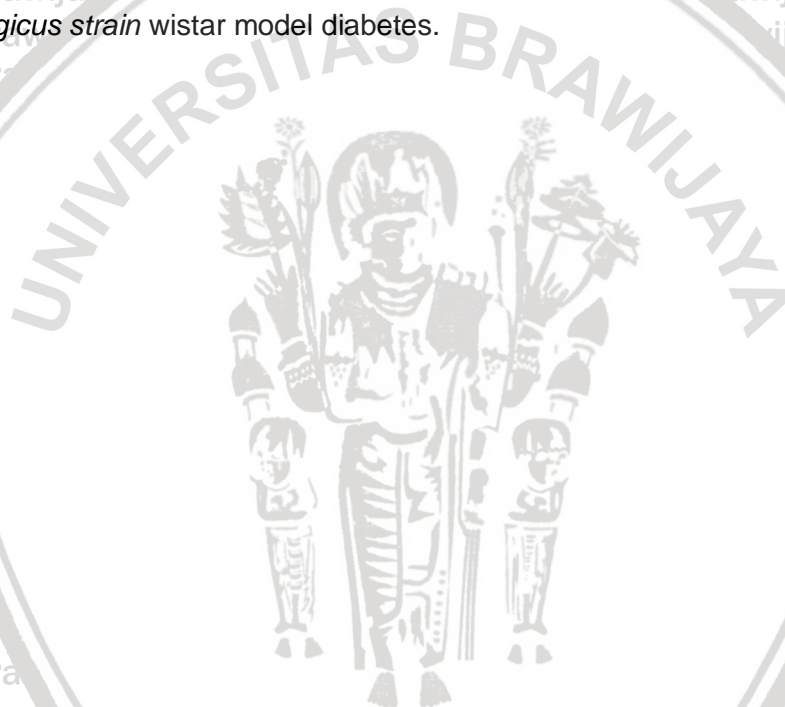
β) adalah faktor-faktor pertumbuhan yang sangat penting dalam proses angiogenesis. Kemudian terjadi infiltrasi neutrofil dan makrofag untuk mengontrol infeksi. Fase proliferasi distimulasi oleh bFGF dan PDGF yang menyebabkan fibroblas mulai sintesis dan deposit komponen *extracellular matrix* (ECM). Fibroblast menjadi sel dominan dan mengekspresikan TGF β sebagai pengarah pembentukan matriks kolagen dan transormasi menjadi miofibroblas, yang dapat mengakibatkan kontraksi. Fibroblast juga dapat mengekspresikan *keratinocyte growth factor 2* (KGF-2) dan *interleukin-6* (IL-6), yang selanjutnya dapat mengekspresikan sendiri keratinosit untuk migrasi pada pinggir luka dan sepanjang membran basalis, melakukan proliferasi dan diferensiasi untuk membentuk epidermis. Fibroblas mensintesis ECM dan membentuk jaringan granulasi sampai matur, dengan menyeimbangan antara deposisi jaringan dan degradasi jaringan, yang dikontrol dengan *matrix metalloproteinase* (MMPs) dan inhibitorynya, sehingga terjadi peningkatan *tensile strenght*.

Luka kronis yang diakibatkan komplikasi diabetes melitus menyebabkan luka lama untuk sembuh, karena terjadi peningkatan ROS, yang dapat menurunkan faktor pertumbuhan, seperti VEGF, TGF β, KGF-2 dan menurunkan sitokin proinflamasi, seperti IL-6. Penurunan ekspresi dari faktor-faktor angiogenik tersebut, berdampak pada berkurangnya proses angiogenesis pada penyembuhan luka. Upaya yang dapat dilakukan untuk mempercepat penyembuhan luka diabetik adalah dengan menghambat peningkatan ROS dan meningkatkan ekspresi *superoxide dismutase* (SOD), dengan cara pemberian antioksidan. Sehingga diharapkan dengan adanya kandungan antosianin pada ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) dapat mepercepat

penyembuhan luka diabetik. Salah satu parameter yang dapat diukur dalam penyembuhan luka adalah jumlah pembuluh darah.

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara topikal dapat meningkatkan jumlah pembuluh darah pada penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus strain wistar* model diabetes.



## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) di laboratorium secara *in vivo* dengan rancangan *randomized post test only controlled group design* yang bertujuan untuk menyelidiki kemungkinan hubungan sebab dan akibat dengan cara memberi intervensi (perlakuan) pada satu kelompok atau lebih kelompok eksperimen, kemudian membandingkan hasil intervensi tersebut dengan kelompok eksperimen yang tidak diberikan perlakuan (kelompok kontrol) (Notoadmodjo, 2002). Kelompok perlakuan merupakan kelompok yang dimanipulasi sedangkan kelompok kontrol diberikan perlakuan standar atau tanpa dimanipulasi. Pengambilan data dilakukan setelah perlakuan selesai sehingga tidak diawali dengan *pre test*. Pada penelitian ini dibagi menjadi 4 kelompok.

#### 4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus *Rattus norvegicus strain* Wistar jantan berusia 10-12 minggu yang diadaptasikan selama 1 minggu di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya sebelum perlakuan. Tikus jantan dipilih karena tidak memiliki hormon estrogen yang berfungsi menjaga keseimbangan kadar glukosa darah (King, 2012). Sedangkan galur Wistar direkomendasikan untuk penelitian hewan coba diabetes karena secara genetik

dapat diinduksi diabetes, memiliki karakteristik mirip dengan manusia dari data fisiologis maupun biokimia glukosa darah. Untuk menghindari terjadinya bias yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka, maka ditentukan inklusi untuk menghomogenkan sampel. Selanjutnya dilakukan *screening* dengan kriteria sebagai berikut

Kriteria inklusi:

- a) Tikus *Rattus norvegicus* Strain Wistar
- b) Jenis kelamin jantan
- c) Umur 10-12 minggu
- d) Berat badan 200 - 300g
- e) Tidak ada kelainan anatomis yang tampak
- f) Tidak mendapatkan pengobatan sebelumnya

Kriteria eksklusi

- a) Tikus wistar sakit selama masa adaptasi 7 hari
- b) Tikus wistar infeksi selama perlakuan berlangsung
- c) Tikus wistar mati selama perlakuan berlangsung

Sampel penelitian diambil secara acak dengan menggunakan teknik *simple random sampling*. Perhitungan besar sampel dihitung berdasarkan rumus Federer (Notoadmodjo, 2002). Pada penelitian ini  $p = 4$ , yaitu 2 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan. Sehingga jumlah pengulangan adalah:

$$P(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$



$$(n - 1) \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

Keterangan :

p = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah sampel tiap perlakuan

Jadi jumlah sampel minimal untuk tiap kelompok adalah 4,75 ekor tikus, dibulatkan menjadi 5 ekor tikus. Jadi jumlah sampel seluruhnya adalah 20 ekor tikus *Rattus norvegicus strain* Wistar.

### 4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan di Laboratorium Fisiologi, Laboratorium Patologi Anatomi, Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur.

### 4.4 Variabel Penelitian

#### 4.4.1 Variabel bebas (Variabel Independen)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara topikal dengan konsentrasi 10% dan 15%.

#### 4.4.2 Variabel tergantung (Variabel Dependen)

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah pembuluh darah pada proses penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar model diabetes.

#### 4.5 Definisi Operasional

1. Tikus *Rattus norvegicus strain wistar* model diabetes dibuat dengan cara induksi Streptozotocin (STZ). Positif Diabetes Melitus jika didapatkan Gula Darah Pusa (GDP) >200 mg/dL, yaitu diukur pada hari ke 7 (Rahati, 2015)
2. Ubi jalar ungu diperoleh dari petani Gunung Kawi, Jawa Timur kemudian diekstrak sehingga dihasilkan gel ekstrak topikal dengan konsentrasi 10% dan 15%.
3. Gel ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) dibuat dengan formula standar gel dengan basis Natrium Karboksimetil selulosa (Na-CMC) (Hamzah *et al*, 2006). Pembuatan gel dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Luka Diabetes Melitus dibuat pada punggung tikus dengan ukuran 1,5x1,5 cm dan sesuai dengan klasifikasi wagner skala 1, yaitu pada superficial mengenai epidermis dan sebagian dermis (Kant *et al.*, 2015)
5. Pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu secara topikal dalam bentuk gel dengan konsentrasi 10% dan 15% diberikan pada kelompok perlakuan selama 14 hari.

6. Pembuluh darah pada luka diidentifikasi sebagai rongga yang berisi eritrosit dikelilingi sel endotel dan tidak tampak sel otot polos.

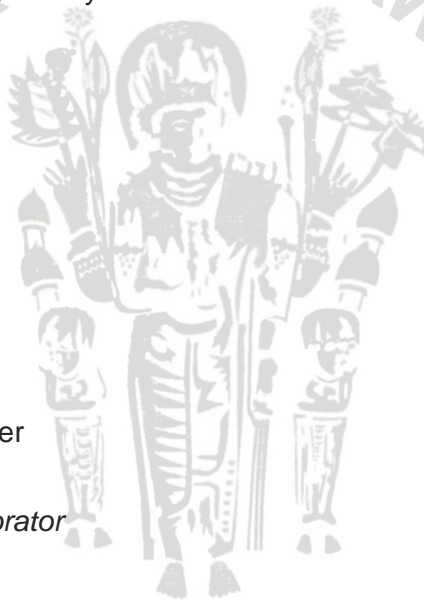
Pengamatan menggunakan mikroskop OLYMPUS CX2ILED dengan perbesaran 400X pada 10 lapang pandang (Kant, 2015).

#### 4.6 Alat dan Bahan Penelitian

##### Pembuatan Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)

Menurut Giusti, 2001 yaitu :

- 1) Neraca
- 2) Cawan petri
- 3) Oven
- 4) Parutan
- 5) Labu erlenmeyer
- 6) *Rotatory evaporator*
- 7) Corong pisah
- 8) Lemari pendingin
- 9) Botol hasil ekstrak
- 10) Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)
- 11) Etanol-HCl 0,01%
- 12) Etil asetat



### **Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.)**

Menurut Hamzah *et al*, 2006 yaitu :

1) Ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L.)

2) Aquades

3) Na-CMC

4) Gliserin

5) Propilenglikol

### **Induksi Diabetes**

Menurut Graham, 2011 yaitu :

1) Sarung tangan

2) S spuit 1 mL

3) Alkohol 70%

4) Streptozotocin (50 mg/KgBB dalam pelarut buffer sitrat 0,1 M pH 4,5)

### **Pengukuran Gula Darah Puasa**

Menurut Kant, 2015 yaitu :

1) Sarung tangan

2) Scalpel

3) Lignokain

4) Glukosa meter (Accu check)

## Pembuatan Luka

Menurut Panda, 2011 :

- 1) Gunting bedah
- 2) Mezt
- 3) *Underpad*
- 4) Sarung tangan
- 5) Pinset anatomis 2 buah
- 6) Kassa
- 7) S spuit
- 8) Ketamin
- 9) Bak steril
- 10) Air steril
- 11) Alkohol 70%
- 12) Bengkok
- 13) Sterofoam
- 14) Alat cukur
- 15) Penggaris



## Perawatan Luka

Menurut Kant, 2015 yaitu :

- 1) Bak instrumen
- 2) Sarung tangan steril
- 3) Kassa steril
- 4) Kassa bersih
- 5) Bengkok
- 6) Perlak
- 7) Hipafix
- 8) Pinset anatomis 2 buah
- 9) Normal saline
- 10) Ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) sediaan gel
- 11) Gunting nekrotomi
- 12) Gunting
- 13) Kom steril
- 14) SPUIT 1cc
- 15) SPUIT 10cc



### **Pemeliharaan Tikus**

Menurut Rahati, 2015 :

- 1) Kandang/bak tikus
- 2) Penutup kandang dari anyaman kawat
- 3) Botol air
- 4) Makanan tikus (katul)
- 5) Sekam

### **Teknik Pencegahan Infeksi**

Menurut Rahati, 2015 yaitu :

- 1) Tempat cuci tangan/wastafel
- 2) Sabun cuci tangan
- 3) Hand sanitizer
- 4) Kain handuk kecil
- 5) Sarung tangan bersih/steril

### **Pembuatan Slide Histopatologi dan Pengecatan Hematoksilin Eosin (HE)**

Berdasarkan Standar Operasional Prosedur Laboratorium Patologi Anatomi

FKUB, 2017 :

1. Pisau *scalpel*
2. Pinset
3. Saringan

4. *Tissue casset*
5. Mesin *automatic tissue tex processor*
6. Mesin *vaccum*
7. Mesin *blocking*
8. Freezer (-20°C)
9. Mesin *microtome*
10. Pisau *microtome*
11. *Water bath 46 °C*
12. Kaca objek
13. Kaca penutup
14. Oven 60°C
15. Potongan jaringan kulit tikus secara melintang yang telah difiksasi dengan *Buffer Neutral Formalin (BNF) 10%*
16. Harris Hematoksilin
17. Air
18. Alkohol asam 1%
19. Amonia lithium karbonat
20. Eosin
21. Alkohol 70%, 80%, 96% Absolut
22. Xilol





23. Gelas objek

24. Gelas penutup

#### **Pengamatan Jumlah Pembuluh Darah**

1. Mikroskop OLYMPUS seri CX2ILED

2. Software OlyVia (Viewer for Imaging Application )

### **4.7 Prosedur Penelitian**

#### **4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)**

Prosedur pembuatan ekstrak etanol ubi jalar ungu dilakukan di Laboratorium Bioorganik, Program Studi Kimia FMPIA Institut Teknologi Bandung, Bandung, meliputi (Giusti, 2001) :

##### **1. Tahap Pengeringan**

- a. Sampel ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) dengan ukuran kecil, sedang, dan besar masing-masing dengan berat 30 gram diiris tipis, diletakkan dalam cawan petri

- b. Dipanaskan dalam oven pada suhu 50 °C.

##### **2. Tahap Ekstraksi**

- a. Sebelum ekstraksi dilakukan, disiapkan pelarut etanol-HCl 0,1% dengan cara menambah 0,1 mL HCl 2 M ke dalam 1L etanol teknis (96%).

- b. Sebanyak 1000 gram sampel ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) segar yang telah bersih diserut menggunakan parutan dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer.
- c. Sampel dimaserasi selama  $\pm 14$  jam dalam pelarut etanol-HCl 0,01%.
- d. Kemudian disaring untuk mendapatkan ekstrak kasar.
- e. Untuk memisahkan pati, ekstrak kasar didiamkan satu malam dalam lemari pendingin ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ) kemudian diekantsi.

### 3. Tahap Evaporasi

- a. Pelarut dalam ekstrak kasar diuapkan pada penguap putar bertekanan rendah dan suhu  $45^\circ\text{C}$ .
- b. Sebagian dari ekstrak bebas pelarut dikering bekukan (*freeze dry*) dan sebagian dilakukan ekstraksi pelarut.
- c. Ekstraksi pelarut dilakukan dua kali dalam corong pisah, yaitu tiap 100mL ekstrak bebas pelarut ditambahkan 100 mL etil asetat kemudian dikocok perlahan.
- d. Setelah dipisahkan dari etil asetat, ekstrak diuapkan pada penguap putar bertekanan rendah pada suhu  $45^\circ\text{C}$ .

#### 4.7.2 Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)

Menurut Hamzah, et al (2006), formula standar gel dengan basis Natrium Karboksimetil selulosa (Na-CMC) berdasarkan % b/b yaitu :

R/ Ekstrak ubi jalar ungu 1,25 g

Na-CMC 1,25 g

Gliserin 2,5 g

Propilenglikol 1,25 g

Aquades ad 25 g

Disiapkan semua bahan yang akan digunakan. Bahan ditimbang sesuai dengan formula yang ada. Ekstrak ubi jalar ungu dilarutkan dalam sebagian air yang telah dipanaskan pada suhu 50°C. Ditambahkan Na-CMC dan diaduk hingga homogen. Ditambahkan gliserin, propilenglikol dan air dengan pengadukan secara kontinyu hingga terbentuk gel. Gel yang telah terbentuk kemudian disimpan pada suhu ruangan selama semalam (Hamzah, 2006).

#### 4.7.3 Preparasi Hewan Coba

Preparasi hewan coba dilakukan selama 7 hari untuk aklimatisasi di laboratorium. Disiapkan 20 tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar jantan usia 10-12 minggu dengan berat badan 200- 300g, ditempatkan satu tikus pada satu kandang. Suhu diatur 25 – 27 °C dan kelembaban 45 – 55%. 12 jam siklus terang-gelap, tikus bebas makan dan minum. Tikus dibagi dalam 4 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus.

#### 4.7.4 Induksi Diabetes

Pembuatan tikus model diabetes dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut (Graham, 2011):

- a. Tikus dibagi secara acak dalam 4 kelompok, setiap kelompok terdapat 5 tikus. Tikus pada kelompok perlakuan 1, kelompok perlakuan 2 diberi perlakuan induksi diabetes. Tikus dibiarkan beradaptasi di kandang selama 7 hari.
- b. Pada hari ke - 8 tikus tidak diberi makan, tapi dapat minum sepenuhnya selama 8 jam saat pagi hari
- c. Mencuci tangan
- d. Menggunakan APD
- e. Streptozotocin (STZ) dilarutkan pada  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  buffer sodium sitrat (pH 4.5)
- f. Dengan segera STZ diinjeksikan secara intraperitoneal (i.p)  $40 \text{ mg Kg}^{-1}$  dengan spuit 1 mL dan jarum 25G.
- g. Tikus dikembalikan ke kandang dengan bebas makan dan minum.

#### 4.7.5 Pengukuran Gula Darah Puasa

Untuk mengetahui apakah tikus telah positif terinduksi diabetes, dilakukan pengukuran gula darah puasa dengan prosedur sebagai berikut (Kant, 2015):

- a. Pada hari ke - 7 tikus dipuasakan selama 8 jam saat pagi hari.
- b. Mencuci tangan
- c. Menggunakan APD
- d. Tikus diolesi Lignocaine sebagai anastesi krim topikal pada ekor tikus dan dipijat selama 10 detik.
- e. Tikus dikembalikan ke kandang dan dibiarkan sekitar 15 menit untuk menunggu efek anastesi.

- f. Tikus ditaruh di tempat yang dapat menahan badanya tapi ekor dapat terekspose.
- g. Ujung dari ekor dipotong menggunakan scalpel steril.
- h. Tetesan darah tikus ( $<5\mu\text{l}$ ) ditaruh pada test strip glukosa meter (Accu *check* yang sudah dipastikan) pada menit ke 0 ( $t = 0$ ) merupakan gula darah puasa dan kemudian hasilnya dicatat.
- i. Pada tikus dengan level gula darah puasa lebih dari  $200 \text{ mg dL}^{-1}$  ( $13,9 \text{ mmol dL}^{-1}$ ) berarti sudah memenuhi kriteria positif diabetes melitus dan masuk dalam kriteria eksperimen.

Pengukuran Gula Darah Puasa dilakukan pada hari ke 0, 3, 7, 14 setelah pemberian STZ.

#### 4.7.6 Pembuatan Luka

Menurut Winarsih *et al* (2012) Pembuatan luka dilakukan pada hari ke 7 setelah dilakukan injeksi STZ dan termasuk  $\text{GDP} > 200 \text{ mg dL}^{-1}$ . Prosedur pembuatan luka, sebagai berikut:

- a. Tikus dibaringkan dengan punggung menghadap ke atas dan dialasi *sterofoam*.
- b. Anastesi umum pada hewan coba menggunakan Ketamin  $25 \text{ mg/KgBB}$  secara intraperitoneal.
- c. Memasukkan hewan coba pada kandang selama 5 menit sampai tikus hilang kesadaran.

- d. Rambut tikus dicukur menggunakan mesh pada bagian punggung dengan ukuran 5x3 cm.
- e. Tandai daerah yang akan dibuat luka dengan ukuran 1,5x1,5 cm.
- f. Desinfeksi menggunakan alkohol 70% dibagian yang akan dilukai.
- g. Cubit bagian kulit dengan pinset, kemudian eksisi bagian kulit dengan kedalaman epidermis hingga hipodermis (2mm) menggunakan gunting bedah.

#### 4.7.7 Perawatan Luka

Perawatan luka dilakukan 1 kali sehari selama 14 hari (Panda, 2011).

Teknik perawatan secara topikal menggunakan teknik steril dengan perawatan luka tertutup kassa untuk mencegah terjadinya infeksi. Luka pada semua kelompok dibersihkan terlebih dahulu dengan cara :

- a. Dilakukan pembersihan luka terhadap darah dengan dialiri larutan NaCl 0,9% dengan spuit 5 ml sampai perdarahan berhenti.
- b. Luka dikeringkan menggunakan kain kasa kering dengan gerakan sirkuler.
- c. Dilakukan perawatan luka menggunakan ekstrak etanol ubi jalar ungu pada tikus yang sesuai kelompok perlakuan, sebagai berikut :
  1. Kelompok kontrol negatif 1 : Tikus sehat yang dilukai dan diberi topikal gel placebo
  2. Kelompok kontrol positif: Tikus diinduksi menjadi DM yang diberi topikal gel placebo

3. Kelompok perlakuan 1: Tikus diinduksi menjadi DM dengan pemberian ekstrak etanol ubi jalar (*Ipomea batatas L*) topikal dengan dosis 10%

4. Kelompok perlakuan 2: Tikus diinduksi menjadi DM dengan pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L*) topikal dengan dosis 15%

#### Prosedur perawatan luka diabetes

Menurut (Panda, 2011):

- a. Cuci tangan
- b. Tempatkan perlak dibawah tikus yang akan dirawat
- c. Memposisikan tikus sehingga mempermudah dalam pelaksanaan
- d. Dekatkan bengkok pada area yang akan dilakukan tindakan
- e. Memakai masker dan sarung tangan steril
- f. Siapkan kassa steril yang sesuai dengan ukuran luka
- g. Bersihkan luka dengan cara mengirigasi luka dengan *Normal saline*
- h. Mengeringkan daerah luka yang telah diirigasi dengan kassa steril
- i. Pada kelompok kontrol negatif dan kontrol positif diberi perawatan luka dengan gel plasebo, dan pada kelompok perlakuan 1 diberikan ekstrak etanol ubi jalar ungu topikal dengan dosis 10%, kelompok perlakuan 2 diberikan ekstrak etanol ubi jalar ungu topikal dengan dosis 15%.

Pemberian secara topikal dengan cara mengoleskan pada luka eksisi dan dibuat lapisan tipis yang menutupi seluruh luka di kelompok masing-masing (Ghori, 2015).

j. Basahi kassa ukuran 2x3 cm dengan Normal saline, lalu tempelkan pada area luka

k. Tempelkan *hypafix* untuk mempertahankan balutan primer

l. Balut luka dengan kassa gulung 6x50 cm. Bentuk balutan seperti gurita bayi.

## 4.8 Prosedur Pemeriksaan

### 4.8.1 Pengambilan Jaringan

Pada hari ke – 14 perawatan luka, hewan coba pada masing-masing kelompok akan dikorbankan dan diambil jaringan luka untuk diamati secara histologis untuk menilai jumlah pembuluh darah. Menurut Winarsih (2012) proses eksisi jaringan dengan mengorbankan hewan coba dengan cara injeksi ketamine sebanyak 25 mg/KgBB untuk masing-masing tikus. Tujuannya untuk meminimalkan rasa nyeri hewan coba saat pengambilan jaringan kulit. Jaringan diambil sekitar 3 mm<sup>3</sup>.

Setelah hewan coba mati, dilakukan pencukuran bulu disekitar punggung yang telah dieksisi, lalu didisinfeksi dengan alkohol 70%. Tiap jaringan yang dieksisi disimpan dalam botol yang berisi larutan formalin buffer agar tetap awet jika harus menunggu untuk diperiksa di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.



#### 4.8.2 Pembuatan Preparat Histopatologi

Pembuatan preparat histologi luka dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017) :

##### a. Pemotongan Jaringan Makros

Jaringan segera difiksasi pada larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10% minimal selama 7 jam. Kemudian jaringan dipotong sesuai lokasi yang diteliti dengan ketebalan 2-3 mm. Kemudian dimasukkan ke dalam kaset dan diberi kode. Jaringan yang berada dalam kaset jaringan dimasukkan kedalam mesin *automatic tissue tex processor* selama 90 menit untuk dilakukan dehidrasi.

##### b. Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan

Parafin yang dicairkan dimasukkan ke dalam cetakan kemudian, jaringan dimasukkan. Jaringan dibiarkan membeku diatas mesin pendingin. Jaringan didalam blok paraffin dipotong dengan menggunakan *rotatory microtome* dengan ketebalan 3-4  $\mu\text{m}$ .

##### c. Deparafinisasi

Setelah jaringan dipotong, kemudian diletakkan ke dalam oven selama 30 menit dengan suhu 70-80° C. Kemudian dimasukkan ke dalam 4 tabung alcohol masing-masing selama 3 menit (hidrasi), dan terakhir dimasukkan air mengalir selama 15 menit.

#### 4.8.3 Pewarnaan Hemaktosilin dan Eosin (HE)

Pewarnaan HE adalah pewarnaan umum yang sering digunakan untuk mengamati morfologi jaringan secara umum. Komponen jaringan yang bersifat

asam diwarnai dengan Hematoksilin (asidofilik), sedangkan sitoplasma diwarnai dengan Eosin (basofilik). Dengan pewarnaan ini dapat divisualisasikan secara jelas bagian inti dan sitoplasma, sehingga gambaran mikroskopis jaringan dapat diamati dengan jelas. Berikut prosedur pewarnaan HE (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2017) :

a. Preparat jaringan dicelupkan secara berurutan ke dalam larutan dengan waku tertentu

- |                                 |             |
|---------------------------------|-------------|
| - Cat utama Harris Hematoksilin | 10-15 menit |
| - Cuci dengan air mengalir      | 15 menit    |
| - Alkohol asam 1%               | 2-5 celup   |
| - Ammonia lithium karbonat      | 3-5 celup   |
| - Eosin                         | 10-15 menit |
| <b>Alkohol bertingkat</b>       |             |
| - Alkohol 70%                   | 3 menit     |
| - Alkohol 80%                   | 3 menit     |
| - Alkohol 96%                   | 3 menit     |
| - Alkohol Absolut               | 3 menit     |

**Penjernihan**

- |         |          |
|---------|----------|
| - Xilol | 15 menit |
| - Xilol | 15 menit |

b. Preparat diangkat

#### c. Mounting dengan entelan dan deckglass

Gelas objek ditutup dengan kaca penutup dan dibiarkan hingga kering pada suhu ruangan, setelah kering maka slide siap untuk diamati.

#### 4.8.4 Prosedur Pengamatan Pembuluh Darah

Interpretasi proses pertumbuhan pembuluh darah baru yang terbentuk diidentifikasi pada penampang melintang, dinilai dengan menghitung jumlah pembuluh darah di daerah luka. Pembuluh darah dapat diidentifikasi sebagai rongga yang berisi eritrosit berwarna merah terang di dalam lumen atau rongga yang dikelilingi sel endotel, dilihat dengan menggunakan mikroskop OLYMPUS seri CX2ILED dengan perbesaran 400X pada tiap lapang pandang. Pengamatan dilakukan pada 10 lapang pandang dari daerah luka (Kant, 2015), kemudian rerata jumlah pembuluh darah didapatkan dari jumlah seluruh pembuluh darah yang dibagi dengan jumlah lapang pandang (Melo, 2011). Jumlah pembuluh darah akan dinyatakan dalam satuan angka.

#### 4.8.5 Pengumpulan Data

Pada hari ke 14, jaringan luka diambil dengan cara dieksisi, selanjutnya difiksasi dengan blok paraffin dan diwarnai dengan prosedur *Hematoxylin eosin*. Pengumpulan data dilakukan secara manual menggunakan mikroskop OLYMPUS seri CX2ILED, kemudian foto jaringan diambil menggunakan *software OlyVia (Viewer for Imaging Application)* dengan perbesaran 400X pada 10 lapang pandang (Kant, 2015). Setelah diamati, jaringan dibandingkan antara

kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, dan antar kelompok perlakuan itu sendiri. Data diambil dari hasil pembacaan di Laboratorium Patologi Anatomi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

## 4.9 Analisa Statistik

### 4.9.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Hasil analisa jumlah pembuluh darah pada masing-masing sampel pada setiap perlakuan dilakukan dengan uji SPSS *version* 20.0 dengan cara uji normalitas dan homogenitas. Jika uji normalitas menunjukkan distribusi yang normal, maka dapat dilakukan *parametric test*, data dapat diketahui dengan menggunakan uji Shapiro wilk pada taraf signifikansi  $\alpha = 0,05$ . Setelah didapatkan distribusi normal, kemudian dilakukan pengujian homogenitas dengan uji *Levene*. Data homogen apabila  $p$  (value)  $> 0,05$  (Dahlan, 2011).

Apabila distribusi data normal dan homogen maka dapat dilakukan *parametric test* dengan *One Way Anova*.

### 4.9.2 Uji One Way Anova

Setelah data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji One Way Anova untuk menguji tiga atau lebih sampel dengan perlakuan yang berbeda dengan selang kepercayaan 95% dan diolah dengan menggunakan program SPSS 20.0 dengan nilai signifikansi  $\alpha = 0,05$ . Bermakna apabila  $\alpha < 0,05$ , dan tidak bermakna apabila  $\alpha > 0,05$  (Dahlan, 2011). Untuk mengetahui

perbedaan rata-rata jumlah pembuluh darah antar kelompok, maka selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc Test*.

#### 4.9.3 Uji Berganda (*Post Hoc Test*)

Uji Post Hoc Tukey HSD berfungsi untuk mencari kelompok yang memiliki perbedaan yang signifikan, dengan signifikansi  $p < (0,05)$

#### 4.9.4 Uji Pearson

Korelasi Pearson *Product Moment* atau biasa disebut pearson  $r$  atau, cukup dengan  $r$  saja, digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dan terikat untuk data interval dan rasio. Karena  $r$  berkisar antara  $-1,0$  sampai  $+1$  sehingga dianggap memiliki hubungan apabila  $r = -1$  artinya korelasi negatif sempurna,  $r = 0$  artinya tidak ada korelasi sama sekali dan  $r = +1$  artinya korelasi positif sempurna (kuat) (Dahlan, 2011).

#### 4.10 Alur Penelitian

20 Ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar, Berat badan 200-300 gram, dan sehat

Aklimatisasi selama 7 hari

Randomisasi tikus ke dalam 4 kelompok

KN  
(5 tikus)

KP  
(5 tikus)

P1  
(5 tikus)

P2  
(5 tikus)

Injeksi STZ 40mg/kgBB

Pengukuran GDP pada hari ke 0,3,7,14 setelah induksi STZ

Tunggu 7 hari

Glukosa darah >200 mg/dl

Pembuatan luka ukuran 1,5 X 1,5 cm dengan kedalaman 2 mm

KN  
dengan  
plasebo  
topikal

KP  
dengan  
plasebo  
topikal

P 1  
dengan  
ekstrak  
topikal  
10%

P 2  
dengan  
ekstrak  
topikal  
15%

Perawatan luka 1 kali sehari selama 14 hari

Terminasi sampel penelitian pada hari ke-14

Pembuatan slide histopatologi dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (H&E)

Pengamatan Jumlah Pembuluh Darah

Analisa Data

Digunakan 4 perlakuan dalam penelitian ini, yang terdiri dari :

1. KN : Kelompok kontrol negatif (n=5) : Tikus sehat yang dilukai dan diberi gel plasebo.
2. KP : Kelompok kontrol positif (n=5) : Tikus diinduksi menjadi DM yang diberi topikal gel plasebo.
3. P1 : Kelompok perlakuan 1 (n=5) : Tikus diinduksi menjadi DM dengan pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu topikal 10%.
4. P2 : Kelompok perlakuan 2 (n=5) : Tikus diinduksi menjadi DM dengan pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu topikal 15%.



## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Selama penelitian berlangsung terdapat satu ekor tikus yang mati sebelum dilakukan terminasi. Satu ekor tikus yang mati pada hari ke-3 setelah injeksi STZ pada kelompok kontrol positif. Tikus yang mati setelah injeksi STZ diperkirakan mati karena hiperglikemia. Setelah induksi diabetes dengan injeksi STZ didapatkan dua ekor tikus yang tidak memenuhi kriteria inklusi tikus untuk dimasukkan pada kelompok perlakuan karena, kadar glukosa darah kurang dari 200 mg dL<sup>-1</sup>. Sehingga sisa sampel yang diteliti pada penelitian ini adalah 20.

#### 5.1 Hasil Perbedaan Jumlah Pembuluh Darah Antar Kelompok

Interpretasi pembuluh darah baru yang terbentuk diidentifikasi pada penampang melintang, dinilai dengan menghitung jumlah pembuluh darah di daerah luka. Pembuluh darah dapat diidentifikasi sebagai rongga yang berisi eritrosit berwarna merah terang di dalam lumen endotel atau berupa rongga yang dikelilingi sel endotel, di amati secara manual dengan menggunakan mikroskop OLYMPUS seri XC21LED dengan perbesaran 400X pada tiap lapang pandang.

Satu slide diambil 10 lapang pandang secara *random* pada daerah luka (Kant, 2015). Pengambilan foto dilakukan dengan menggunakan *software* OlyVia (*Viewer for Imaging Application*), kemudian rerata pembuluh darah didapatkan dari jumlah seluruh pembuluh darah dibagi dengan jumlah lapang pandang ( Melol, 2011).





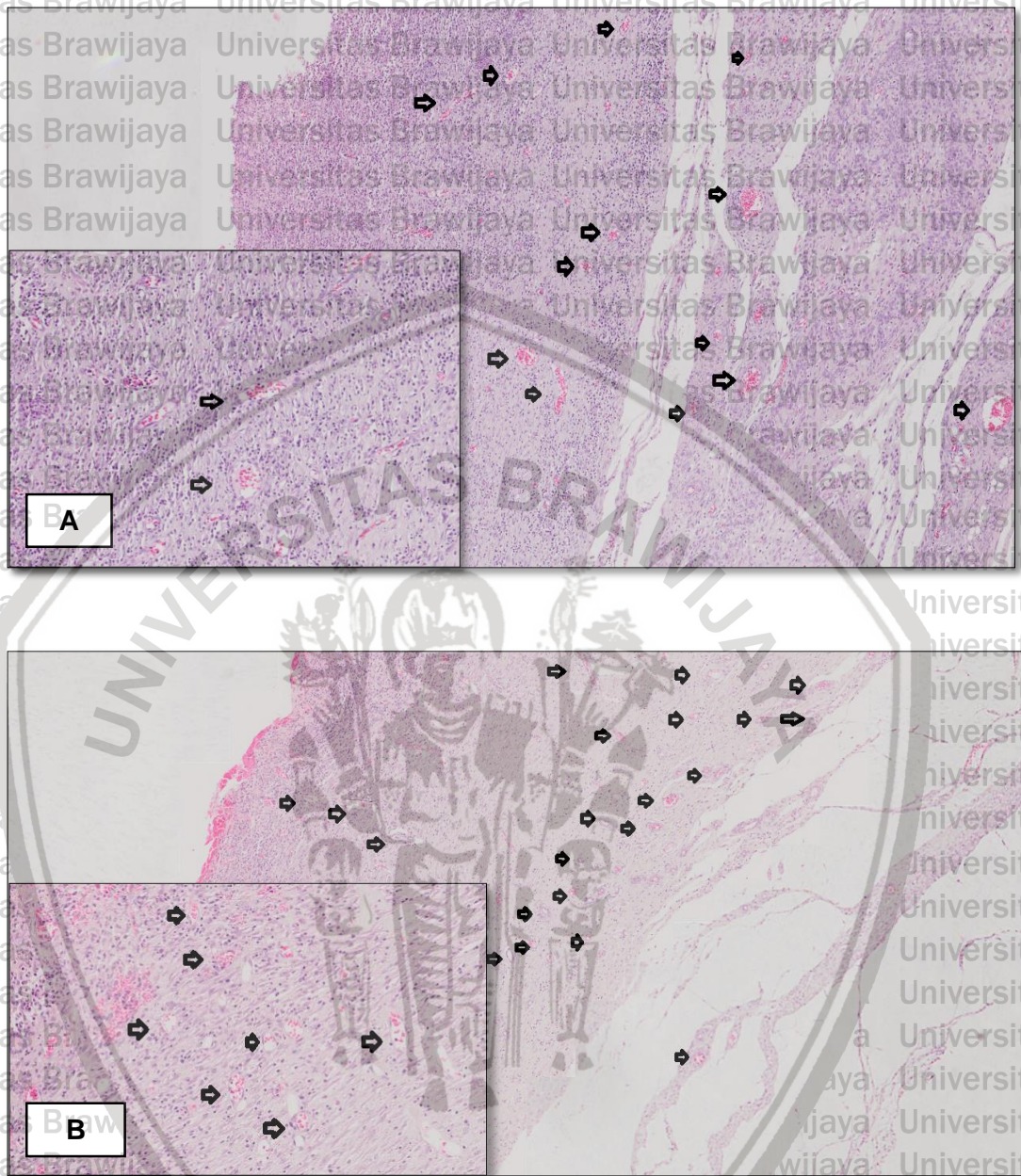
Gambar 5.1 Foto Penampang Daerah Luka pada Kelompok Kontrol Negatif (A) dan Kontrol

Positif (B), dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (H&E) pada perbesaran 100x.

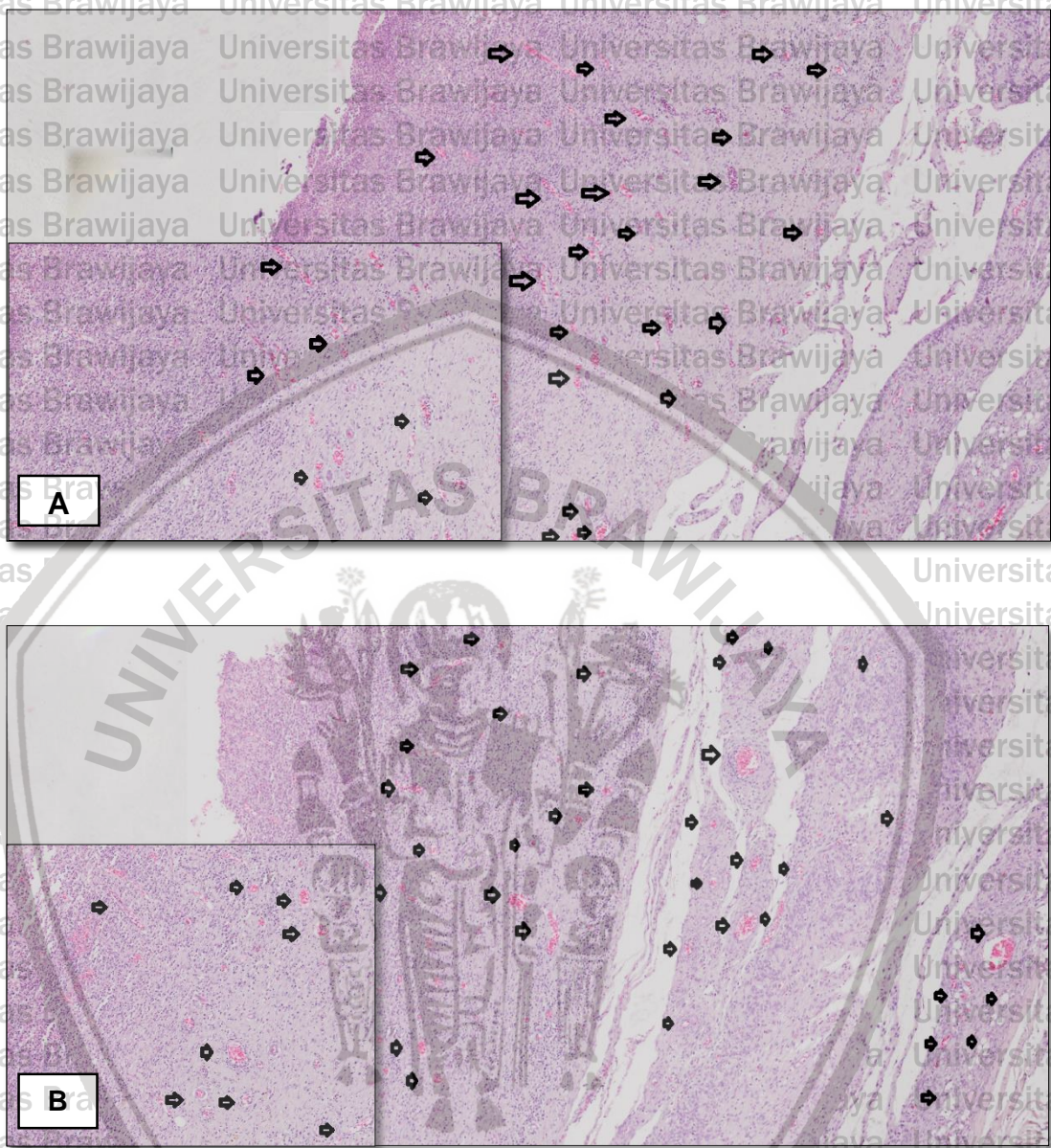
Jumlah pembuluh darah kelompok kontrol negatif pada daerah luka (panah hitam)

tampak lebih banyak daripada kelompok kontrol positif. Gambaran histologi dengan

perbesaran 400x pada di pojok kiri bawah.



Gambar 5.2 Foto Penampang Daerah Luka pada Kelompok Kontrol Positif (A) dan Perlakuan 1 (B), dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin (H&E) pada perbesaran 100x. Jumlah pembuluh darah kelompok perlakuan 1 pada daerah luka (panah hitam) tampak lebih banyak daripada kelompok kontrol positif. Gambaran histologi dengan perbesaran 400x pada di pojok kiri bawah.



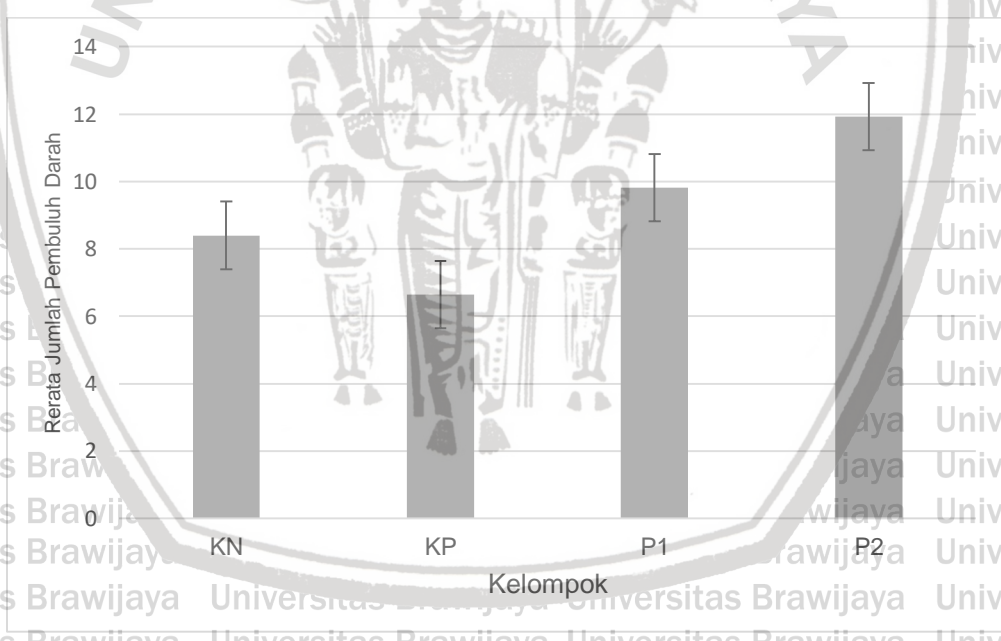
Gambar 5.3 Foto Penampang Daerah Luka pada Kelompok Perlakuan 1 (A) dan Perlakuan 2

(B), dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (H&E) pada perbesaran 100x. Jumlah pembuluh darah kelompok perlakuan 2 pada daerah luka (panah hitam) tampak lebih banyak daripada kelompok perlakuan 1. Gambaran histologi dengan perbesaran 400x pada di pojok kiri bawah.

Berikut ini merupakan hasil perhitungan jumlah pembuluh darah pada masing-masing kelompok.

**Tabel 5.1 Data Rerata ± SD Jumlah Pembuluh Darah Tiap Sampel**

Kelompok	Jumlah Pembuluh Darah (Rerata ±SD)
Negatif (KN)	8,40 ± 0,35
Positif (KP)	6,64 ± 0,52
Perlakuan 1 (P1)	9,82 ± 0,56
Perlakuan 2 (P2)	11,92 ± 1,53



**Gambar 5.4 Grafik Rata-Rata Jumlah Pembuluh Darah Pada Tiap Kelompok Tikus *Rattus norvegicus* Strain Wistar.**

Hasil pengamatan dan penghitungan jumlah pembuluh darah pada tabel 5.5, menunjukkan bahwa hasil rerata yang diperoleh pada kelompok negatif ( $8,40 \pm 0,35$ ) memiliki rerata jumlah pembuluh darah lebih besar dibandingkan kelompok kontrol positif ( $6,64 \pm 0,52$ ). Dapat diketahui pula bahwa terdapat perbedaan jumlah rerata pembuluh darah antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, dimana kelompok kontrol positif ( $6,64 \pm 0,52$ ) memiliki rerata jumlah pembuluh darah lebih kecil dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1 ( $9,82 \pm 0,56$ ) dan perlakuan 2 ( $11,92 \pm 1,53$ ). Berdasarkan tabel 5.1 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan nilai rata-rata antara kelompok perlakuan (P1 dan P2), dimana diperoleh hasil rata-rata tertinggi pada kelompok perlakuan 2 ( $11,92 \pm 1,53$ ) dengan pemberian gel ekstrak ubi jalar ungu 15% secara topikal.

## 5.2 Analisis Data

Pengujian pengaruh pemberian ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L*) terhadap angiogenesis pada penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus strain* wistar model diabetes dilakukan menggunakan software SPSS versi 20. Analisis data diawali dengan uji normalitas Shapiro-Wilk bertujuan untuk mengetahui normalitas data penelitian, dianggap normal apabila  $p \geq 0,05$ . Setelah diketahui normalitas data penelitian ( $p \geq 0,05$ ), kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas. Uji homogenitas menggunakan uji Levene, data homogen apabila  $p \geq 0,05$ . Kemudian dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan (peningkatan atau penurunan) angiogenesis yang signifikan antar kelompok. Sedangkan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan pada minimal dua kelompok perlakuan, maka dilakukan uji *Post Hoc* untuk mengidentifikasi perbedaan antar kelompok.

## 5.2.1 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas

### 5.2.1.1 Uji Normalitas

Uji normalitas yang digunakan pada penelitian ini adalah metode Shapiro-Wilk. Hasil uji normalitas signifikan apabila  $p > 0,05$ . Dari hasil uji normalitas didapatkan bahwa data rata-rata jumlah pembuluh darah memiliki nilai signifikansi ( $p = 0,496$ )  $> 0,05$ . Sehingga dapat disimpulkan bahwa data penelitian menyebar mengikuti sebaran normal sehingga syarat data berdistribusi normal telah terpenuhi (Lampiran 1).

### 5.2.1.2 Uji Homogenitas

Setelah uji normalitas, dilakukan uji selanjutnya yaitu uji homogenitas untuk menentukan homogenitas sampel penelitian. Pengujian homogenitas data dengan menggunakan uji Levene, yang memiliki nilai signifikansi  $p > 0,05$ . Dari hasil pengujian homogenitas data, didapatkan bahwa data rata-rata jumlah pembuluh darah memiliki nilai signifikansi ( $p = 0.145$ )  $> 0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel penelitian memiliki data yang homogen (Lampiran 1).

## 5.2.2 Hasil Uji One-Way ANOVA

Uji *One-Way* ANOVA dapat dilakukan apabila data berdistribusi normal dan homogen. Uji *One-Way* ANOVA merupakan uji komparatif untuk menilai perbedaan rata-rata (*mean*) data lebih dari dua kelompok dengan nilai signifikansi  $p < 0,05$ . Berdasarkan tabel uji *One-Way* ANOVA diketahui data rata-rata jumlah pembuluh darah memiliki nilai signifikansi ( $p = 0,000$ )  $< 0,05$  sehingga dapat

disimpulkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada rata-rata jumlah pembuluh darah pada 4 kelompok perlakuan. (Lampiran 1).

### 5.2.3 Hasil Uji Perbandingan Berganda (Uji Post Hoc)

Apabila uji *One Way ANOVA* menunjukkan  $p < 0,05$ , maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* dengan menggunakan salah satu fungsi Tukey yang merupakan uji beda lanjut untuk melihat signifikansi rata-rata jumlah pembuluh darah antar kelompok perlakuan. Nilai ( $p < 0,05$ ) menunjukkan adanya signifikansi antar kelompok perlakuan.

**Tabel 5.2 Hasil Uji *Pos Hoc Tukey* Jumlah Pembuluh Darah Tikus *Rattus norvegicus* Strain Wistar Pada Masing-Masing Perlakuan**

Konsentrasi (i)	Perbandingan (j)	Sig.
KN	KN	0,024*
	P1	0,081
	P2	0,000*
KP	KN	0,024*
	P1	0,000*
	P2	0,000*
P1 (10%)	KN	0,081
	KP	0,000*
	P2	0,007*
P2 (15%)	KN	0,000*
	KP	0,000*
	P1	0,007*

\* terdapat perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ )

Pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan yang bermakna terhadap dua kelompok penelitian yaitu pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan 2, tetapi tidak memiliki perbedaan yang bermakna jika

dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1. Sedangkan pada kelompok kontrol positif memiliki perbedaan yang bermakna terhadap semua kelompok perlakuan.

Pada kelompok perlakuan 1 memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan 2, tetapi tidak memiliki perbedaan yang bermakna kelompok kontrol negatif. Sedangkan pada kelompok perlakuan 2 memiliki nilai perbedaan yang bermakna semua kelompok perlakuan.

(Lampiran 1).

#### 5.2.4 Hasil Uji Korelasi

Uji korelasi pearson digunakan untuk menilai korelasi atau hubungan antara dua variabel yaitu konsentrasi ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L*) dan angiogenesis, dengan nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ). Hasil uji korelasi memiliki nilai signifikansi ( $p = 0,000$ )  $< 0,05$  serta memiliki nilai *Pearson correlation coefficient* ( $r$ ) = 0.926 yang menunjukkan hubungan atau korelasi yang cukup kuat dan signifikan. *Pearson correlation coefficient* ( $r$ ) bernilai positif apabila korelasi berbanding lurus. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*), maka semakin banyak jumlah pembuluh darah baru yang terbentuk pada tikus *Rattus norvegicus strain wistar*. (Lampiran 1).



## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pengaruh Diabetes Melitus terhadap Jumlah Pembuluh Darah pada Tikus

##### *Rattus Novergicus Strain Wistar*

Pada kelompok kontrol positif yang terdiri dari tikus induksi diabetes dengan injeksi Streptozotocin (STZ) dengan perawatan luka topikal menggunakan gel plasebo menunjukkan hasil rata-rata jumlah pembuluh darah paling rendah ( $6,64 \pm 0,52$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang terdiri dari tikus normal dengan perawatan luka menggunakan gel plasebo ( $8,40 \pm 0,35$ ), juga jauh lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol 1 ( $9,82 \pm 0,56$ ) dengan pemberian gel ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) konsentrasi 10% dan kelompok perlakuan 2 ( $11,92 \pm 1,53$ ) dengan pemberian gel ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) konsentrasi 15%.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Winarsih (2012) dan Nugroho (2006) induksi diabetes melitus menggunakan metode injeksi STZ dosis tunggal 40 mg/kgBB intraperitoneal. Mekanisme STZ untuk menginduksi diabetes mellitus dimulai dengan masuknya STZ ke dalam sel  $\beta$  pankreas melalui transporter glukosa GLUT 2 menuju membran plasma. Proses kerusakan sel diawali dengan berkurangnya jumlah adenosin trifosfat (ATP), yang disebabkan oleh inhibisi siklus Krebs dan mengurangi konsumsi oksigen di dalam mitokondria sehingga akan terbentuk *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan kerusakan DNA.

Kerusakan sel  $\beta$  pankreas menyebabkan pankreas tidak dapat memproduksi

insulin. Tujuh hari setelah injeksi STZ terjadi peningkatan kadar glukosa darah yang menandakan tikus dalam kondisi diabetes mellitus.

Pada penyuntikan STZ secara intraperitoneal pada hewan coba terdapat 3 fase. Fase pertama dimulai dengan peningkatan kadar glukosa darah setelah satu jam paska penyuntikan. Fase ini menunjukkan berkurangnya kadar insulin pada darah yang berlangsung 2 sampai 4 jam . Fase kedua terjadi hipoglikemia yang berlangsung selama 4 sampai 8 jam paska penyuntikan. Pemberian konsentrat glukosa sangat diperlukan untuk mencegah kematian akibat hipoglikemia. Hipoglikemia terjadi akibat pecahnya sel  $\beta$  pankreas yang mengandung insulin. Pecahnya sel diakibatkan oleh toksisitas STZ. Insulin kemudian akan beredar ke pembuluh darah dan berikatan dengan reseptor di sel lemak dan sel otot, menyebabkan penurunan kadar glukosa dengan cepat. Fase ketiga terjadi peningkatan kadar glukosa darah yang permanen dengan adanya kerusakan yang hampir menyeluruh pada sel  $\beta$  pankreas setelah 12-24 jam paska penyuntikan (Sankaran,2011).

Pada penelitian ini, tikus yang diinduksi dengan STZ memiliki rata-rata jumlah pembuluh darah yang lebih rendah dibandingkan dengan tikus normal yang tidak diinduksi STZ. Kondisi hiperglikemia pada diabetes mellitus menyebabkan gangguan pada proses angiogenesis akibat berkurangnya VEGF, FGF, TGF- $\beta$ , *endothelial progenitor cells* (EPCs) dan faktor pertumbuhan lainnya juga peningkatan degradasi *extracellular matrix* (ECM). EPCs merupakan faktor penting dalam angiogenesis karena berperan dalam proliferasi, migrasi, diferensiasi, dan sumber untuk sitokin proangiogenik (Tonnesen, 2000). Penelitian yang dilakukan oleh Rupina, dkk (2016) menunjukkan bahwa peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) pada penderita diabetes melitus menyebabkan penurunan

faktor pertumbuhan salah satunya adalah TGF- $\beta$  yang diperlukan fibroblas untuk mensintesis kolagen. Penurunan sintesis kolagen menyebabkan penurunan tensi luka pada proses penyembuhan luka. Peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) juga menyebabkan penurunan proses epitelisasi sehingga *wound contraction* juga terganggu (Panda, 2011)

## **6.2 Pengaruh Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*) terhadap Jumlah Pembuluh Darah pada Tikus *Rattus norvegicus Strain Wistar Model Diabetes***

Pada penelitian ini analisa data menunjukkan bahwa pemberian gel ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) memberikan perbedaan yang signifikan terhadap jumlah pembuluh darah pada tikus kondisi diabetes mellitus. Rata-rata jumlah pembuluh darah terbesar terdapat pada kelompok perlakuan 2 ( $11,92 \pm 1,53$ ), dengan pemberian gel ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) konsentrasi 15% sedangkan rata-rata jumlah pembuluh darah terkecil terdapat pada kelompok kontrol positif ( $6,64 \pm 0,52$ ), dengan pemberian gel plasebo.

Pengaruh tersebut disebabkan oleh zat aktif yang terkandung dalam ekstrak ubi jalar ungu.. Uji analisa kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak ubi jalar (*Ipomea batatas L.*) memiliki kandungan alkaloid, anthraquinone, coumarin, flavonoid, saponin, tannin, dan berbagai macam polifenol seperti antosianin, cinnamic, asam fenolat, dan, peonidin aglyconat (Crozier *et al.*, 2007). Dari semua zat yang terkandung, antosianin adalah yang paling dominan, dan memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi (Dong *et al.*, 2011). Antosianin adalah zat yang menghasilkan warna merah atau ungu pada tumbuhan. Kadar antosianin pada

ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) berbanding lurus dengan kadar antioksidan yang terkandung di dalamnya (Dong *et al.*, 2011).

Ubi jalar ungu memiliki kandungan Antosianin yang paling besar dibandingkan dengan tumbuhan lain yang memiliki zat warna merah atau ungu, dimana pada ubi jalar ungu terdapat kandungan antosianin 110,51 mg per 100 gram ubi jalar ungu (Huaman, 1992). Antosianin yang terdapat pada ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan kulit anggur, elderberry dan mulberry (Kano *et al.*, 2005). Sehingga, pemberian ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara topikal dapat memberikan dampak yang baik terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah pada kondisi diabetes mellitus.

Antosianin pada ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) memiliki efek antioksidan dan antiinflamasi dengan menurunkan faktor inflamasi yaitu TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan MMP-9 sehingga dapat memperpendek fase inflamasi, meningkatkan level sitokin anti inflamasi IL-10 dan meningkatkan enzim antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD), katalase, *glutathione peroxidase* (GPx) pada kondisi luka (Panda *et al.*, 2011). Hal tersebut sejalan dengan telaah artikel tentang potensi anthosianin pada penyembuhan luka.

Pada tahap inflamasi yaitu mengurangi produksi sitokin pro inflamasi TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , menurunkan (ROS), penurunan (ROS) akan menyebabkan terjadinya peningkatan faktor-faktor pertumbuhan seperti TGF- $\beta$ , yang berperan penting terhadap inisiasi sintesis kolagen, sehingga penurunan aktivitas (ROS) dapat meningkatkan sintesis kolagen. Penurunan aktivitas ROS juga dapat meningkatkan angiogenesis dengan adanya peningkatan faktor-faktor

pertumbuhan yang berperan penting terhadap angiogenesis seperti VEGF, FGF, TGF- $\beta$ , *endothelial progenitor cells* (EPCs), pada fase proliferasi dengan meningkatkan migrasi fibroblast, pembentukan jaringan granulasi dan deposisi kolagen, sedangkan pada fase remodelling dapat meningkatkan kontraksi luka (Rupina *et al*, 2016)

Sel-sel mikrovaskular endotel adalah sel parenkim utama yang terlibat dalam proses angiogenesis pada penyembuhan luka.. Sebagai respon dari cedera, sel mikrovaskular endotel memulai proses angiogenik yang terdiri dari induksi hiperpermeabilitas mikrovaskuler, degradasi membran basal lokal, migrasi dan *sprouting* ke stroma, proliferasi sel dan pembentukan jaringan granulasi, rekonstruksi membran basal, pembentukan pembuluh darah baru, stabilisasi, dan akhirnya regresi dan involusi pembuluh darah yang baru terbentuk sebagai remodeling jaringan (Tonnesen MG *et al.*, 2000).

Awal pembentukan pembuluh darah baru terjadi pada hari ke 3 pada fase proliferasi setelah terjadi luka, pertumbuhan pembuluh darah mencapai maksimal dan berdiferensiasi antara hari ke 7 sampai hari ke 14 (Ram, 2016). Sejalan dengan penelitian Yuhernita (2014) menyatakan bahwa terjadi kenaikan jumlah pembuluh darah pada periode hari ke 7 sampai hari ke- 14, namun jumlahnya akan menurun setelah hari ke 15, seiring dengan dimulainya fase maturasi atau *remodelling*. Hal tersebut didukung oleh penelitian Prasetyo (2010) menjelaskan bahwa jumlah tertinggi dari pembentukan pembuluh darah baru terjadi pada hari ke 5. Pembentukan pembuluh darah baru pada hari ke 1 sampai hari ke 14 terus meningkat dan mencapai puncaknya pada hari ke 5, dan mulai mengalami penurunan pada hari ke 15 (Ram, 2016).

### 6.3 Pengaruh Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*) Konsentrasi 10% dan 15% terhadap Jumlah Pembuluh Darah pada Tikus *Rattus norvegicus* Strain Wistar Model Diabetes

Pada kelompok perlakuan 2 (pemberian ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) konsentrasi 15%) dengan rata-rata jumlah pembuluh darah yaitu,  $(11,92 \pm 1,53)$  terdapat peningkatan rata-rata jumlah pembuluh darah yang signifikan apabila dibandingkan kelompok perlakuan 1 (pemberian ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) konsentrasi 10%)  $(9,82 \pm 0,56)$ . Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) konsentrasi 15% memberi hasil yang lebih baik untuk meningkatkan rata-rata jumlah pembuluh darah.

Penggunaan ekstrak ethanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara topikal dengan konsentrasi 10% dipilih sebagai konsentrasi terendah pada penelitian ini. Hal tersebut mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Vandana (2011) yang meneliti efek pemberian gel ekstrak ubi jalar (*Ipomea batatas*) dengan konsentrasi 3%, 6%, dan 10% terhadap *wound contraction* pada luka. Hasilnya ekstrak ubi jalar (*Ipomea batatas*) dengan konsentrasi 10% memberikan hasil yang paling signifikan.

Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) konsentrasi 15% masih bekerja optimal dalam dosis terapeutik untuk menurunkan aktivitas ROS sehingga dapat meningkatkan angiogenesis dengan adanya peningkatan faktor-faktor pertumbuhan yang berperan penting terhadap angiogenesis seperti VEGF, FGF, TGF- $\beta$ , *endothelial progenitor cells*

(EPCs). Sehingga didapatkan peningkatan jumlah pembuluh darah pada konsentrasi 15%.

#### 6.4 Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas L.*)

##### Terhadap Peningkatan Jumlah Pembuluh Darah Tikus *Rattus norvegicus*

##### *Strain Wistar Model Diabetes*

Menurut uji korelasi pearson terdapat hubungan ekstrak ubi jalar ungu topikal terhadap peningkatan jumlah pembuluh darah ditunjukkan dengan nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,005$ ) dengan nilai korelasi *pearson* = 0.926 memiliki hubungan yang sangat kuat karena nilai korelasi menunjukkan angka positif, sehingga semakin tinggi dosis ekstrak topikal ubi jalar ungu, semakin tinggi jumlah pembuluh darah. Hal ini juga didukung dengan rerata jumlah pembuluh darah pada kelompok perlakuan 1 ( $9,82 \pm 0,56$ ) dan kelompok perlakuan 2 ( $11,92 \pm 1,53$ ), dimana rerata jumlah pembuluh darah meningkat pada kelompok perlakuan dengan penambahan konsentrasi ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*)

Hasil tersebut menunjukkan bahwa kandungan zat aktif pada ekstrak ubi jalar ungu berperan dalam proses penyembuhan luka. Semakin tinggi dosis semakin tinggi jumlah pembuluh darah, sehingga nutrisi dan oksigen pada jaringan luka akan terpenuhi ditandai dengan bertambahnya jumlah pembuluh darah. Hal ini didukung oleh penelitian Vandana (2011), pada pemberian gel ekstrak ubi jalar (*Ipomea batatas*) dengan konsentrasi 3%, 6%, dan 10% yang memiliki efek paling baik dalam meningkatkan *wound contraction* adalah ekstrak ubi jalar (*Ipomea batatas*) dengan konsentrasi 10%, sedangkan pada parameter penyembuhan luka yang menggunakan *hydroxyproline*, hanya gel ekstrak ubi jalar konsentrasi 10%

saja yang menunjukkan nilai yang signifikan dan pada pengukuran kadar *ascorbic acid* yang dapat memberikan interpretasi kadar antioksidan menunjukkan bahwa hanya ekstrak ubi jalar (*Ipomea batatas*) konsentrasi 10% yang memiliki nilai signifikan.

### 6.5 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Aplikasi praktis dari penelitian ini adalah memanfaatkan tanaman yang ada di sekitar masyarakat Indonesia sebagai dasar penelitian terutama dalam bidang obat herbal sehingga diharapkan dapat memberikan kemajuan pengobatan dan diharapkan juga dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat obat herbal dalam penyembuhan luka terutama untuk penderita diabetes melitus. Ubi jalar (*Ipomea batatas L.*) dapat di dayagunakan dalam aplikasi akademis untuk menambah ilmu pengetahuan tentang obat herbal terutama ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) dalam penyembuhan luka pada penderita diabetes melitus.

Uji pada penelitian ini pada tahap uji *in vivo* awal pada hewan coba tikus. Pada uji *in vivo* diteliti pengaruh ekstrak secara farmakologi maupun farmakokinetik serta uji toksigenitas untuk mengetahui keamanan dan aktivitas biologi pada hewan coba, tahap ini dilakukan dalam 3-4 tahun. Kemudian dilanjutkan dengan tahap *clinical development* selama 6 tahun melalui fase I uji farmakologi pada manusia untuk menentukan dosis dan keamanan, fase II yaitu eksplorasi terapeutik untuk mengevaluasi efektivitas dan mencari tahu efek samping, fase III konfirmasi terapeutik untuk memverifikasi efektifitas, monitor *adverse reaction* dari penggunaan jangka panjang. Setelah semua uji terlewati,



maka tahap *review* dan *approval* dilakukan dengan tambahan uji pemasaran selama sekitar 25 tahun (Chhabra *et al*, 2012). Oleh karena itu, penelitian ini masih pada tahap dini dan perlu penelitian lanjut jangka panjang untuk benar-benar dapat diaplikasikan sebagai terapi penyembuhan luka pada penderita melitus yang dapat diterapkan pada manusia.

## 6.6 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan penelitian terdapat pada konsentrasi gel ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) hanya menggunakan 2 konsentrasi berbeda, sehingga tidak dapat menentukan batas konsentrasi yang aman untuk pemberian ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) agar dapat diketahui konsentrasi yang memiliki efek terapeutik dan efek toksik. Keterbatasan penelitian juga disebabkan oleh belum dilakukan penelitian mengenai efek pemberian ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara oral, sehingga tidak dapat dibandingkan efek penyembuhan luka pada pemberian ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara oral dan topikal.

## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Diabetes mellitus mengurangi proses pertumbuhan pembuluh darah baru pada penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus strain wistar*.
2. Ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) mempunyai efek meningkatkan jumlah pembuluh darah pada penyembuhan luka tikus *Rattus norvegicus strain wistar* yang diinduksi diabetes melitus.
3. Ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) konsentrasi 15% mempunyai efek peningkatan jumlah pembuluh darah yang lebih baik dibandingkan ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) konsentrasi 10%.
4. Terdapat korelasi yang bermakna antara konsentrasi ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) topikal dengan peningkatan jumlah pembuluh darah.

### 7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan berbagai macam konsentrasi ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*), sehingga dapat diketahui konsentrasi terapeutik dan konsentrasi yang dapat memberikan efek toksik.
2. Perlu dilakukan penelitian mengenai efek pemberian ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara per-oral dengan metode sonde, sehingga dapat diketahui perbedaan efek antara ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomea batatas L.*) secara oral dan topikal terhadap penyembuhan luka tikus model diabetes.

